

Beiträge zur quantitativen pharmazeutischen Analyse mit Hilfe von Grenzreaktionen

Verkürzte Fassung der
Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

Friedrich A. Lehner

Apotheker

aus Basel

1948

Druck und Verlag: Dr. J. Weiss, Affoltern a. A.

Beiträge zur quantitativen pharmazeutischen Analyse mit Hilfe von Grenzreaktionen

Verkürzte Fassung der
Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

Friedrich A. Lehner

Apotheker

aus Basel

1948

Druck und Verlag: Dr. J. Weiss, Affoltern a. A.

Genehmigt von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen
Fakultät auf Antrag der

Herren Professoren Dr. K. Leupin und Dr. T. Reichstein

Basel, den 20. Januar 1948.

Prof. Dr. M. Fierz

Dekan

Herrn Friedrich A. Lehner wurde von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 20. Januar 1948 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 20. Januar 1948 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im Pharmazeutischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.



Meinen lieben Eltern gewidmet

Die Anwendung der Grenzreaktionsmethode gehört schon lange in die Praxis der Physiologie, der physiologischen Chemie (Harnanalyse, Wirkungsermittlung von Fermenten), der Bakteriologie und der Biologie (Hämolyse- und Wachstumsversuche; neuerdings in der Mikrobiologie zur Bestimmung von Penicillin¹). Die Methode beruht auf der Ermittlung der Grenzreaktion, d. h. einer eben noch feststellbaren Veränderung, mit Hilfe von Verdünnungsreihen. Der aus der Grenzreaktion berechnete Grenzwert dient dabei zur quantitativen Erfassung eines Stoffes.

In der pharmazeutischen Analyse trifft man nur selten auf die direkte Anwendung dieser Methode, es sei denn, es handle sich um eine aus den eingangs erwähnten Gebieten übernommene Reaktion wie z. B. die Verdauungsprobe bei Pepsin, die Hämolyseprobe bei Saponinen etc. Der Codex Gallicus führt unter dem Artikel „*extrait d'ipécacuanha*“ eine Schnellmethode auf, bei der er zur Feststellung des Wirkungswertes die Verdünnungsreihe umgeht und direkt die Konzentration angibt, bei der eine Reaktion noch erkennbar sein muß oder nicht mehr eintreten darf².

Als eine indirekte Anwendung der Grenzreaktionsmethode kann man die Reinheitsprüfungen der Pharmakopöen betrachten. Um die Grenze einer Reaktion zu bestimmen, die eine nicht erwünschte Verunreinigung erkennen läßt, wurde die Empfindlichkeit der Prüfungen mittels Verdünnungsreihen festgestellt^{3 4}. Die Britische Pharmakopöe nennt diese Prüfungen denn auch sinngerecht: quantitative limit tests⁵. Ebenfalls unter die Grenzreaktionen können die Prüfungen auf vollständige Extraktion einer alkaloidhaltigen Droge mit Mayers Reagens oder Kaliumwismutjodid⁶ eingereiht werden.

¹ J. Boymond, Pharm. Act. Helv. 6, 358 (1947).

² Codex Gallicus, 6e édit., 1937, t. 2, p. 374.

³ T. Niederer, Diss. E.T.H. 1926.

⁴ Z. Karaoglanov. Zschrft. f. analyt. Ch., 114, 81 (1938).

⁵ British Pharmacop. 1932.

⁶ W. Butz, Pharm. Act. Helv. 10, 363 (1945).

Wir haben uns nun die Aufgabe gestellt, in der vorliegenden Arbeit die erweiterte Anwendung der Grenzreaktionen in der pharmazeutischen quantitativen Analyse zu prüfen. Wir waren uns dabei von vornherein bewußt, daß die Vorteile der Methode, Zeitersparnis, Substanzökonomie und einfache Ausführung, auf Kosten einer größeren Genauigkeit der Resultate gehen müssen. Doch zeigten unsere Versuche, daß die Werte der Grenzreaktionsmethode sich neben den Resultaten anderer, schon gut eingeführter Methoden sehen lassen dürfen, wobei wir z. B. auf die kolorimetrische und nephelometrische Bestimmung hinweisen.

A. Theoretischer Teil

I. Arbeitsmethode

1. Die Verdünnungsreihe

a) Die progressive Verdünnungsreihe

In der Anordnung der progressiven Verdünnungsreihe hielten wir uns in groben Zügen an die Vorschrift des Taschenbuches für medizinisch-klinische Diagnostik⁷. Diese läßt in eine Serie von Reagensgläschen in das erste Gläschen 2 cm³ der zu untersuchenden Lösung und in die übrigen je 1 cm³ einer inerten Flüssigkeit bringen. Aus dem ersten Gläschen wird mit einer Pipette 1 cm³ Lösung entnommen und mit dem Inhalt des 2. Gläschens vermischt. Hierauf wird 1 cm³ des entstandenen Gemisches in das 3. Gläschen abpipettiert etc. Diese und auch andere uns zugängliche Vorschriften berücksichtigen aber die kleine, für eine genaue Abmessung doch nicht zu vernachlässigende Flüssigkeitsmenge nicht, die jeweils in der Spitze der Pipette zurückbleibt. Im folgenden geben wir eine von uns abgeänderte Vorschrift wieder:

In eine Serie von Reagensgläschen wird in das Röhrchen (in der Folge nur Rö genannt) No. 1 2 cm³ der zu untersuchenden Flüssigkeit abgemessen, und in die andern je 1 cm³ einer inerten Flüssigkeit gebracht. Mittels einer Pipette wird 1 cm³ aus Rö 1 in das Rö 2 gebracht und gut durchgeschüttelt, wobei ev. am Glase anhaftende Tropfen in die Flüssigkeit gespült werden müssen. Der kleine Rest, der in der Spitze der Pipette zurückbleibt, wird in das Rö 1 zurückgeblasen. Somit befinden sich im Rö 1 genau 1 cm³ der Ausgangslösung. Aus den 2 cm³ der 1+1 verdünnten Lösung im Rö 2 wird wiederum 1 cm³ in das Rö 3 abpipettiert u. s. f.

⁷ Müller-Seifert, Taschenbuch der med. klin. Diagnostik, München 1942, p. 149.

In das zweitletzte Rö der je nach Bedarf beliebig lang gewählten Serie wird nach der Entnahme von 1 cm³ und nach dem Verwerfen der 1 cm³ entnommenen Flüssigkeit nur noch der in der Spitze zurückbleibende Tropfen gebracht. Das letzte Rö dient als Vergleichslösung und enthält demnach 1 cm³ der inerten Flüssigkeit.

Die Verdünnung von Rö zu Rö nimmt in den Potenzen der Zahl 2 zu.

In der Annahme, daß das erste Rö stets mit No. 1 bezeichnet und die Serie fortlaufend numeriert wird, ergibt sich die entsprechende Verdünnung nach folgender einfachen Berechnung:

$$Vd_n = K \cdot 2^{n-1} \quad (I)$$

K = Anfangskonzentration, ausgedrückt durch den Nenner des Konzentrationsverhältnisses, bezogen auf den Zähler 1.

Vd_n = gesuchte Verdünnung.

n = Seriennummer des Rö.

Als Pipette benutzten wir mit Vorteil eine Vollpipette von 1 cm³. Die inerte Flüssigkeit bestand in den meisten Fällen aus destilliertem Wasser. Die Versuche wurden in gut gereinigten und getrockneten Reagensgläsern gleicher Größe (160 × 13 mm) ausgeführt.

b) Die Interpolation

Läßt zwar die Anwendung der Verdünnungsreihe eine sehr rasche Ermittlung des Grenzwertes zu, so sind die erhaltenen Werte doch noch zu ungenau. Sie differieren von Rö zu Rö um 100 %. Mit Interpolationen stellten wir daher die Zwischenwerte fest. Die Verdünnung des Rö, das die Grenzreaktion aufweist, dient dazu als Basis. Eine Flüssigkeitsmenge von nur 1 cm³ pro Rö genügt dabei für eine genaue Beobachtung nicht mehr. Eine Gesamtmenge von 2 cm³ erwies sich als am vorteilhaftesten und ließ eine gute Wertbestimmung innerhalb der durchschnittlichen, von verschiedenen Ursachen bedingten Fehlergrenze von 5—10 Prozent zu. 1,9 bis 1 cm³ der Basisverdünnung (Vd₁) wurden mit der inerten Flüssigkeit auf 2 cm³ ergänzt. Damit differiert

der Gehalt von einem Rö zum andern um 5—10 %. Mit einer Meßpipette von 2 cm³ oder mit einer Mikrobürette kann aber noch 1/20 cm³ abgemessen werden, die Differenz kann somit noch auf 2,5—5 % herabgesetzt werden.

Zur Berechnung der interpolierten Verdünnung stellten wir folgende Formel auf:

$$\boxed{Vd_2 = \frac{Vd_1 \cdot 2}{a}} \quad (II)$$

Vd_1 = Nenner des Verdünnungsquotienten der Basisverdünnung, bezogen auf den Zähler 1.

Vd_2 = Verdünnung nach Interpolation.

a = angewandte cm³ der Basisverdünnung.

Ein Beispiel:

Basisverdünnung (Vd_1) = 1:8000. Die Grenzreaktion wird bei 1,6 cm³ beobachtet ($a = 1,6$ cm³).

$$Vd_2 = \frac{8000 \cdot 2}{1,6} = \frac{16\,000}{1,6} = 10\,000.$$

Die gesuchte Verdünnung besteht nach dem Verhältnis 1:10 000.

c) Der Grenzwert

Die aus der Verdünnung berechnete und auf 1 cm³ Lösung bezogene Substanzmenge, die durch eine Reaktion eben noch erfaßbar ist, nannten wir Grenzwert.

Die Ermittlung des Grenzwertes verlangte die Einhaltung nachstehender Bedingungen:

1. Konstant zusammengesetztes Reagens,
2. konstante Zeitdauer der Ablesung,
3. konstante Temperatur,
4. konstante Lichtverhältnisse bei der Ablesung.

In speziellen Fällen kamen noch dazu: konstante Erwärmungszeit, gleich langes Durchschütteln etc.

Als äußerste Ablesungsdauer setzten wir aus rein praktischen Gründen 15 Minuten. Die meisten Reaktionen erreichen

innerhalb dieser Zeitdauer eine Empfindlichkeit, die nahe am Maximum liegt. Die Fällung von Coffein z. B. mit Natriumwismutjodid erreicht nach 15 Min. einen Grenzwert von 28,5 γ , nach 1 h liegt dieser bei 27 γ und nach 24 h bei 25 γ .

Der Einfluß der Temperatur wechselt je nach Reagens. Die größte Schwankung in der Empfindlichkeit beobachteten wir bei einigen kristallinen Fällungen. So konnten wir bei der Ausfällung von Coffein mittels Kaliumantimonjodid in mit Kochsalz gesättigter Lösung folgende Steigerung der Empfindlichkeit mit abnehmender Temperatur feststellen:

Temperatur der Reaktions- flüssigkeit:	Empfindlichkeit	
	in γ Coffein:	als Grenzverdünnung:
27°	25	1:40 000
22°	22,5	1:44 500 ca.
20°	20	1:50 000
18°	17,5	1:57 000 ca.
15°	15	1:66 500 ca.

Tabelle 1

Die Grenzwerte, die wir in der Folge angeben werden, beziehen sich auf die Ablesung bei 20° C.

Bei feindispersen Fällungen oder Trübungen haben die Lichtverhältnisse auf die Exaktheit der Ablesung einen großen Einfluß. Wir benützten durchwegs helles diffuses Licht und als Hilfsmittel helle oder dunkle Unterlagen.

Die genaue Größe des Grenzwertes stellten wir durch eine größere Anzahl von Parallelversuchen fest. Die Streuung der Methode verlangt zum mindesten die Herstellung von 3 Proben gleicher Verdünnung des selben Präparates. Wir verglichen ferner Reagenzien mit verschiedenen Herstellungsdaten.

Den Gehalt einer Lösung mit unbekannter quantitativer Zusammensetzung (oder der Auflösung eines Präparates mit unbekannter quantitativer Zusammensetzung in einer bestimmten, genau bemessenen Flüssigkeitsmenge) berechneten wir nach:

$$S = \frac{2^{n-1} \cdot G \cdot 2 \cdot b}{a} \quad \gamma = \frac{2^n \cdot G \cdot b}{a} \quad \gamma, \text{ oder}$$

$$S = \frac{2 \cdot G \cdot b}{a \cdot 1000} \text{ mg} \cdot \quad (\text{III})$$

- a = angewandte cm³ der Basisverdünnung (= Vd₁ = Verdünnung in Rö No. n).
 b = Anzahl cm³ der Lösung mit unbekannter quantitativer Zusammensetzung.
 n = Seriennummer des Rö der Verdünnungsreihe, das die Grenzreaktion aufweist.
 G = Grenzwert in γ ausgedrückt.
 S = gesuchter Substanzgehalt in b cm³ Lösung.

Beispiel:

Ermittlung des Gehaltes an Phenobarbitalum solubile in einer Lösung, die noch Dimethylaminoantipyrin und Coffein enthält. Fällung mit Quecksilbersulfat.

$$G = 14 \gamma.$$

$$n = 2,$$

$$a = 1,5 \text{ cm}^3,$$

$$b = 100 \text{ cm}^3,$$

$$S = \frac{2^2 \cdot 14 \cdot 100}{1,5 \cdot 1000} \text{ mg} = 37,3 \text{ mg}.$$

100 cm³ weisen demnach 37,3 mg Phenobarbitalum solubile auf.

2. Die Grenzreaktion

a) Die Empfindlichkeit im Allgemeinen

Die Empfindlichkeit chemischer Reaktionen hängt von mehreren Faktoren ab. Wenn daher die dürftigen Angaben über die Empfindlichkeit nicht übereinstimmen, vgl. z. B. die Angaben von Schneider⁸, so liegt der Grund in erster Linie darin, daß die Untersuchungen unter sehr verschiedenen Bedingungen ausgeführt worden sind.

W. Böttger machte anhand von Untersuchungen an Silberhalogeniden die Annahme, daß die Empfindlichkeit (E) als Summe zweier Faktoren ausgedrückt werden kann:

$$E = L + S,$$

⁸ Schneider, Pharm. Zentr.halle, 28, 449 (1887).

⁹ W. Böttger, Zschrft. f. angew. Chem., 25, 1992 (1912).

wobei L die Löslichkeit, S die Sichtbarkeit des betreffenden Reaktionsproduktes bedeutet. Nachdem Böttger selbst festgestellt hatte, daß die Versuchsergebnisse nur selten mit der Theorie übereinstimmen, kam I. M. Kolthoff¹⁰ zum Schluß, daß weder L noch S wirkliche Konstanten darstellen. Die Absolutwerte sind von der Art der Niederschläge und den Versuchsbedingungen abhängig. Die Böttger'sche Beziehung hat nur in Idealfällen Gültigkeit, wenn die Löslichkeit von der Teilchengröße und diese weitgehend von den Versuchsbedingungen unabhängig sind.

Zur Erklärung der Abhängigkeit der Empfindlichkeit von der Teilchengröße des Niederschlages kommt Kolthoff auf die längst bekannte Tatsache zurück, daß die Löslichkeit sehr kleiner Kristalle infolge der Zunahme der Oberflächenenergie viel größer ist als diejenige von Kristallen mit größeren Abmessungen. (Eine Ausnahme machen die weichen Kristalle wie z. B. die Silberhalogenide.) Die Teilchengröße im Niederschlag wird von verschiedenen Bedingungen bestimmt, wie z. B. von der Keimbildung, vom Wachstum je nach Sättigungsgrad etc. Erst, wenn diese Bedingungen gleichbleiben und konstante Versuchsanordnungen (z. B. Tyndalleffekt durch konstante Beleuchtung) eingehalten werden, kann die Sichtbarkeit einer bestimmten Menge der Fällung entsprechen. Karaoglanov⁴ weist auf die Einwirkung von Elektrolyten hin, da er aus der Regel nach Wilhelm Ostwald, wonach bei der Bildung eines Niederschlages die unbeständigen Formen zuerst erscheinen, schließt, daß der kolloide Zustand die unbeständige Form eines Niederschlages ist, und sich erst über das Gel der grobkristalline Zustand bildet. Elektrolyte können daher eine Reaktion begünstigen.

b) Die Empfindlichkeit im Speziellen

Es liegt uns fern, die Bedingungen, die Karaoglanov an einigen anorganischen Salzen studierte, auf die von uns angewandten Reaktionen im einzelnen zu übertragen. Wir weisen nur summarisch auf die verschiedenen Arten von Reaktionen hin, deren

¹⁰ I. M. Kolthoff, Zschrft. f. analyt. Chem., 86, 34 (1931).

Anwendungsmöglichkeiten wir geprüft haben. Wir unterscheiden:

1. grobkristalline Fällung,
2. kleinkristalline oder amorphe Fällung,
3. Trübungen,
4. gelatinöse Ausflockungen,
5. Färbungen.

Mit wenigen Ausnahmen haben wir nur Fällungsreaktionen gebraucht.

Aus dem über die Empfindlichkeit im Allgemeinen gesagten tritt klar hervor, wie groß der Einfluß von Verunreinigungen und Beimischungen sein kann. Wir haben daher alle Reaktionen außer in reiner wäßriger Lösung auch mit Lösungen durchgeführt, die mit einer oder verschiedenen Beimischungen versetzt worden waren.

Auf die Löslichkeits- und Uebersättigungsverhältnisse wirkt die Konzentration und die Menge des Fällungsmittels sehr stark ein, da es ja in den meisten Fällen im Ueberschuß beigesetzt wird. Bei einigen Reaktionen steigt die Empfindlichkeit mit der Zunahme des Reagensüberschusses, bei andern nimmt sie z. T. sehr stark ab. Zu den ersteren können wir die Einwirkung von KJ_3 oder von komplexen Metalljodiden zählen, während bei den meisten Fällungen mit anorganischen Quecksilbersalzen auf eine Verdünnung der Reagenslösung eine starke Erhöhung der Empfindlichkeit eintritt. Natürlich gilt diese Feststellung nur innerhalb gewisser Grenzen. Dieser Umstand verhalf uns allgemein, durch die Wahl der Reagenskonzentration die Empfindlichkeitsgrenze so zu verschieben, daß wir eine optimale Genauigkeit der Ablesung erhalten konnten.

c) Die Genauigkeit

Die Genauigkeit ist von der Konstanz der Empfindlichkeit abhängig. Da aber eine Konstanz nur im Idealfalle möglich ist, versuchten wir, so weit es praktisch möglich war, die zur Ermittlung des Grenzwertes gestellten Bedingungen einzuhalten (vide p. 5).

Von 5 Rö z. B., in denen eine kristalline Fällung erfolgen sollte, zeigten bei der Grenzverdünnung im besten Falle 2 Rö eine starke Kristallbildung, während die andern 3 nur sehr langsame, schwache oder überhaupt keine Reaktion aufwiesen. Das Entstehen von Kristallkeimen könnte nun durch Kratzen mit einem dünnen Glasstabe beschleunigt werden. Die dabei auftretende, dicht feinkristalline Fällung zeigte aber in den Grenzwerten zu große Streuung. Eine brauchbare Konstanz der Werte ergab sich durch zeitweiliges Durchschütteln der Rö innerhalb der Beobachtungszeit von 15 Minuten. Zeigten dann von 3 Rö deren 2 eine Veränderung, so sahen wir die Reaktion als positiv an.

Der Grenzwert ist aber dann nur schwer zu ermitteln, wenn der Uebergang von der positiv zur negativ ausfallenden Reaktion eine größere Spanne zeigt, was bei Trübungen sehr oft der Fall ist. Solche Reaktionen waren denn auch für unsere Zwecke nicht anwendbar.

Farbreaktionen waren unbrauchbar, sofern sie nicht mit irgend einer Fällung verbunden waren, da mit der alleinigen Hilfe des Auges keine Anhaltspunkte für die genaue Grenzermittlung gegeben sind*.

Schwierigkeiten bereitete die Ablesung der gelatinösen, kolloiden Abscheidungen, die für das Auge manchmal beinahe unsichtbar sind. Durch kräftiges Schütteln konnte in den meisten Fällen eine Zusammenballung erzielt werden, die dann gegen eine dunkle Unterlage gut sichtbar wurde. Fehlresultate durch starken Einschluß von Luftbläschen in gelatinöser Flüssigkeit vermieden wir dadurch, daß wir nach dem Durchschütteln die Reaktionsflüssigkeit eine bestimmte Zeit lang auf die Seite stellten.

Die Genauigkeit der Ermittlung des Grenzwertes und damit die Genauigkeit des daraus berechneten Analysenresultates wird schließlich noch beeinflußt von der Lage des Grenzwertes. Während wir aus den Erfahrungen der praktischen Anwendung die niederste noch brauchbare Empfindlichkeit mit 1 mg pro cm^3 oder 1:1000 ansetzten, ergab sich andernseits bei 10 γ pro cm^3 oder 1:100 000 die oberste Grenze, über die hinaus die Werte zu

* Auch eine Ausarbeitung der sog. „Murexidreaktion“ zeigte z. B. nicht die erwarteten Resultate, da die Grenzwerte zu große Streuungen aufweisen.

ungenau wurden. Die innerhalb dieser Spanne festgestellten Grenzwerte weisen eine Streuung von $\pm 5 - 10\%$ auf.

Die von uns angegebenen Reaktionen sind in bezug auf ihre Empfindlichkeit reproduzierbar, soweit sie nach den von uns eingehaltenen Bedingungen angewandt werden.

II. Die Reaktionen mit isolierten Stoffen

1. Auswahl der Stoffe

Wir ließen uns vom Gedanken leiten, die praktische Anwendung der Grenzreaktions-Methode an solchen Substanzen zu studieren, deren quantitative Analysierung nur mit relativ zeitraubenden und komplizierten Methoden zugänglich ist. Die im folgenden angeführten Stoffgruppen zeigen daher eine gewisse Einheitlichkeit in bezug auf ihre schlechte Titrierbarkeit und z. T. auch in ihrem gleichzeitigen Vorkommen in zusammengesetzten pharmazeutischen Präparaten:

- a) Purinderivate: Coffein, Theobromin und Theophyllin.
- b) Analgetika: Antipyrin, Dimethylaminoantipyrin, Phenazetin und Laktophenin.
- c) Derivate der Barbitursäure: Diaethyl-, Phenylaethyl-, Diallyl-, Allylisopropyl- und Zylohexenylaethylbarbitursäure und die entsprechenden löslichen Salze.

2. Die Reagenzien

Für die Auswahl der Reagenzien waren für uns die Erfüllung folgender Forderungen ausschlaggebend:

- 1. brauchbare Empfindlichkeit,
- 2. genau feststellbarer Grenzpunkt der Reaktion,
- 3. eindeutige Zusammensetzung,
- 4. leichte Herstellung im Apothekerlaboratorium,
- 5. Haltbarkeit.

Wenn wir für ein und dieselbe Substanz mehr als ein Reagens angeben, so wollen wir dennoch nicht den Anspruch erheben, alle Möglichkeiten erschöpft zu haben.

a) Die Reagenzien der Purinbasen

Für die Reaktionen, die allen 3 Purinbasen gemeinsam sind, beschränkten wir uns aus der längeren Liste, die die einschlägige Literatur¹¹ anführt, auf die Anwendung von 3 Fällungsreagenzien:

Natriumwismutjodid,
Kaliumanimonjodid,
Jodlösung.

Natriumwismutjodid

Seit der Originalvorschrift für Kaliumwismutjodid von Dragendorff¹², der Wismutjodid mit der zur Lösung notwendigen Jodkaliumlösung versetzte, aber keine genauen Mengenverhältnisse angab, sind viele Publikationen über Abänderungen, Verbesserungen und Anwendung erschienen: U. a. das Reagens nach Frön¹³, die Abänderung nach Kraut¹⁴, der vom basischen Wismutnitrat ausging und mit salpetersaurer Lösung arbeitete, und deren Anwendung durch Thoms¹⁵ und Jahns¹⁶, die Vorschrift nach Mangini¹⁷, in der die Hydrolyse durch Zusatz von HCl verhindert werden sollte, die Studien von François und Séguin¹⁸ und in neuester Zeit die Arbeiten von Martini¹⁹, Lüdy²⁰ und Butz⁶. Fran-

¹¹ Merck's Reagenzien-Verzeichnis, Darmstadt 1939.

H. Meyer. Nachweis und Bestimmungen organischer Verbindungen, (Lehrbuch der org.-chem. Methodik, 2. Bd.), Berlin 1922, p. 414.

L. Rosenthaler. Der Nachweis organischer Verbindungen, (Die chem. Analyse, 19./20. Bd.), Stuttgart 1914, p. 599 ff.

L. Rosenthaler. Qualitative pharmazeutische Analyse. Stuttgart 1922, p. 87.

W. Autenrieth. Auffindung der Gifte und stark wirkender Arzneistoffe, Tübingen 1909, p. 278.

Lebeau et Courtois. Traité de pharmacie chimique, Paris 1947, t. IV, p. 3905.

¹² Dragendorff. Pharm. Zschrft. für Rußland, 5, 82 (1866), ref. bei Butz, loc. cit.

¹³ Frön. Chem. Zentralblatt, 6, 263 (1875).

¹⁴ Kraut. Annal. d. Chem. 210, 310 (1882).

¹⁵ H. Thoms. Ber. d. Deutsch. Pharm. Ges. 85 (1905).

¹⁶ E. Jahns. Arch. d. Pharm. 235, 152 (1897).

¹⁷ Mangini. B., 15, 2275 (1882).

¹⁸ F. François und L. Séguin. J. d. Pharm. et d. Chim. 2 (8), 60 (1925).

¹⁹ A. Martini. Mikrochem. vereinigt mit Mikroch. Act. 29, 170 (1941). ref.: Pharm. Zentralhalle 84, 107 (1943).

²⁰ F. Lüdy. Pharm. Act. Helv., 11, 388 (1944).

gois und Blanc geben eine interessante Gegenüberstellung der drei gebräuchlichsten Herstellungsarten, die durch die angewandten Wismutverbindungen differieren. Mehrere dieser Modifikationen sind speziell für die Mikrochemie von Bedeutung, eigneten sich aber für unsere Zwecke nicht, da sie einerseits zu wenig empfindlich waren, andererseits in verdünnten Lösungen sofort hydrolysierten. Zudem ist das bisher meist gebrauchte Kraut'sche Reagens von der Zusammensetzung des basischen Wismutnitrats abhängig. Wir glaubten, auch auf die Vorteile der neuesten Vorschrift, derjenigen von Butz, verzichten zu dürfen, obgleich diese stöchiometrisch genaue Verhältnisse aufweist und daher jeden, die Empfindlichkeit hemmenden Jodidüberschuß ausschließt, sich aber trotz Glycerinzusatz als nicht stabil genug erweist. Allen unseren Postulaten entsprach das Reagens des Codex Gallicus²², eine Natriumwismutjodidlösung*, die trotz Jodidüberschuß die gleiche Empfindlichkeit zeigt wie das Reagens von Butz, dafür aber in schwefelsaurer Lösung bei einer Versuchstemperatur von 20° mindestens eine Stunde, in vielen Fällen über 24 h lang stabil bleibt. Die Hydrolyse zeigt sich dann durch die Bildung eines dunkelorange, ringförmigen Ansatzes von Oxyjodid am Reagensglase an. Während im Reagens das Komplexsalz Na_3BiJ_6 angenommen werden kann, die Literatur aber auch von NaBiJ_4 , Na_2BiJ_5 , Na_4HBiJ_8 , Na_2BiJ_9 etc. spricht, wobei dann in saurer Lösung die freie Hexajodowismutsäure etc. entsteht, scheint uns die Zusammensetzung des mit basischen Körpern sich bildenden Niederschlages wichtiger zu sein. E. Neugebauer²³ gibt als Beispiel die Zusammensetzung für Anilin an als $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{H}_3\text{N} \cdot \text{J}, \text{BiJ}_3$, die unabhängig von der Konzentration sein soll.

Die Reagenslösung als solche zeigt nach einigen Tagen Ausscheidung von freiem Jod als feiner Film an der Flaschenwand. Durch Zufügen von einigen Tropfen Natriumbisulfit konnten wir dies verhindern.

²¹ F. François und L. G. Blanc. Bull. soc. chim. 3, 333 (1923).

²² t. I, p. 389.

²³ ref. bei Kraut, loc. cit.

* Ueber genaue Vorschrift: Vide experimenteller Teil, Reagenzienverzeichnis.

Natriumwismutjodid gibt mit den Purinbasen charakteristisch gefärbte Kristalle. Malmy²⁴ stellte fest, daß eine ältere Reagenslösung nicht mehr die in unserer Tabelle wiedergegebenen Färbungen ergibt, sondern Theobromin als braune und Coffein als rote Kristalle fällt. Denselben Effekt erhielt er durch die Zufügung von alter Jodtinktur zu einer frisch hergestellten Reagenslösung, und er schloß daraus, daß die Farbänderung durch die freie Jodwasserstoffsäure verursacht wird, die mit der Jodtinktur zugefügt wurde oder im Reagens durch längeres Lagern entstanden war. Die dann gefällten Produkte müssen als Perjodide aufgefaßt werden. Nach dem Vorschlag von Malmy bewahrten wir daher das Reagens in hellen Flaschen auf, um die Bildung von freier Jodwasserstoffsäure zurückzudrängen. Auch nach einer Lagerung von 6 Monaten konnten wir keine Farbänderungen bei den Niederschlägen beobachten.

Zu je 1 cm³ Flüssigkeit fügten wir 3 Tropfen konz. H₂SO₄ und nach Abkühlung auf 20° einen Tropfen Reagens zu. Weniger Säure hat Nachlassen der Empfindlichkeit oder Hydrolyse zur Folge. Ebenfalls hydrolytische Spaltung verursacht 4—5 Tr. H₂SO₄ (Ausfällung von dunkelm Wismutoxyjodid). Ein Mehrzusatz an Reagens bewirkt auch Abnahme der Empfindlichkeit.

Natur der Niederschläge:

	Farbe	mikroskopisches Bild
Coffein	gelb-orange	Büschel feinsten Nadelchen,
Theophyllin	orange	spießförmige Plättchen,
Theobromin	rot	gleichmässige Rhomboide

Tabelle 2

Die Grenzwerte liegen bei den 3 Purinderivaten weit auseinander:

	Grenzwert in γ :
Coffein (wasserfrei)	28,5
Theophyllin	400
Theobromin	160

²⁴ M. Malmy. Journ. de Pharm. et de Chim., 23 (7), 89 (1921).

Während Coffein gute Uebereinstimmung der Werte ergibt, zeigt die Ablesung bei Theophyllin und Theobromin Komplikationen. Bei beiden hemmt zuweilen eine gelbe Trübung (die auch mit Jodlösung eintritt und daher nicht auf Hydrolyse beruht) die kristalline Ausfällung. Die Werte fallen dabei zu hoch aus. Als Grenzpunkt berücksichtigen wir deshalb nur die Kristallbildung, die sich durch ihre dunklere Färbung gut abzeichnet.

Kaliumantimonjodid, KSbJ_4

Nach der Vorschrift von Caille und Viel²⁵ wird Antimontrioxyd oder -trichlorid mit Salzsäure aufgelöst und die salzsaure Lösung mit einer Kaliumjodidlösung vermischt*. Die frisch hergestellte Lösung ist etwas heller orange als die Natriumwismutjodidlösung, dunkelt aber sehr rasch nach und erreicht nach 2—3 Monaten die Tönung von Jodtinktur. Da ein dunkles Reagens die Bildung des hellgelben, kristallinen Fällungsproduktes nicht mehr genau beobachten ließ, fügten wir in solchen Fällen der zu untersuchenden Lösung einen Tropfen einer 1 %igen Lösung von neutralem Natriumsulfit zu. Die oben erwähnten Autoren setzten zu 1 cm³ stark salzsaurer Lösung (20%ige HCl) 4 cm³ Reagens zu. Unsere Versuche zeigten, daß sowohl eine Verminderung des Salzsäurezusatzes als auch ein bedeutend sparsamerer Reagensverbrauch zu einer optimalen Empfindlichkeit genügten. Wir ließen zu 1 cm³ Alkaloidlösung 6 Tr. 25%ige Salzsäure zufließen und nach gutem Durchschütteln 10 Tr. Reagens. Dieser Säurezusatz ist notwendig, um die Hydrolyse der Antimontetraiodwasserstoffsäure in dunkelbraunes Antimonoxyjodid oder weißliches Antimonoxyd zu verhindern. Weinsäure oder essigsaure Lösungen zeigen sich ebenfalls als stabil, haben aber kaum mehr Reaktionsfähigkeit. Hingegen brachten wir in einigen Fällen kochsalzgesättigte Lösungen zur Anwendung, die sich ohne Ansäuern als stabil erweisen und in der Empfindlichkeit beinahe an die salzsauren Lösungen herankommen.

²⁵ Caille et Viel, *Comptrendu*, **176**, 1156 (1923).

* Ueber genaue Vorschrift: Vide experimenteller Teil, Reagenzienverzeichnis.

In salzsaurer Lösung verschwindet bis zum 4. Tr. Reagens die erstauftretende gelbe Farbe wieder (ev. unter Bildung einer Jod-Chlorverbindung), und erst der 5. Tr. hinterläßt bleibende Färbung. Als Fällungsprodukt müssen wir die unter dem Wismutreagens beschriebenen entsprechenden Antimonverbindungen annehmen, d. h. für Anilin: $C_6H_5 \cdot NH_3 \cdot J$, SbJ_3 . Die Reaktionen der Purinbasen sind durchwegs empfindlicher als bei Natriumwismutjodid, zeigen aber in bezug auf Farbe und mikroskop. Bild unter sich nur kleine Unterschiede. Die Niederschläge sind hellgelb und lassen in der Vergrößerung für Coffein und Theophyllin Nadelchen bis rautenförmige Plättchen, für Theobromin regelmäßige Rhomboide erkennen. Die Grenzwerte für Coffein und Theobromin liegen nahe beieinander und sind ca. $5 \times$ kleiner als derjenige von Theophyllin:

In salzsaurer Lösung:

	Grenzwert in γ :
Coffein (wasserfrei)	16
Theobromin	22,5
Theophyllin	100

In gesättigter NaCl-Lösung:

Coffein (wasserfrei)	19
----------------------	----

Jodlösung

Nach C. Kippenberger²⁶ reagiert Jodkaliumlösung auf Alkaloide in der Weise, daß zunächst jodwasserstoffsäure Verbindungen entstehen. Diese bilden sich nicht vollständig durch Wechselwirkung zwischen Jodkalium und der Lösung einerseits und dem Alkaloidsalz andererseits, sondern das freie Jod der Lösung bildet vielmehr unter Hydrolyse mit dem Alkaloid ein jodwasserstoffsäures Salz, dem sich dann für ein Molekül der Verbindung 2 Atome Jod addieren, um die unlösliche Verbindung von jodwasserstoffsaurem Alkaloidperjodid zu ergeben. Bekanntlich reagieren nun die Purinderivate in neutraler Lösung nicht. Dies erklärt sich dadurch, daß jodwasserstoffsäures Coffein z. B. in der wäßrigen Lösung stark gespalten ist, und daß die frei gewordene HJ mit der durch die Einwirkung von Jod auf Coffein entstandenen Jodsäure unter Jodabspaltung reagiert. Das freigewordene Jod wirkt wiederum erneut auf Coffein ein etc. Durch Zusatz von Säuren wird dieser Kreislauf gestört.

²⁶ C. Kippenberger, Zschrft. f. analyt. Chemie, 35, 422 (1896).

Coffein zeigt unter den Purinderivaten die größte Empfindlichkeit. Wir wählten daher diejenige Konzentration der Jodlösung, die mit Coffein optimale Resultate ergab. Die Empfindlichkeit nahm mit der Azidität der von uns mit H_2SO_4 versetzten Lösung zu, doch waren zu stark saure Lösungen nicht stabil. Wir brauchten daher wie bei Wismutjodid 3 Tr. konz. H_2SO_4 . Verdünnte Jodlösungen ergeben bessere Beobachtungsverhältnisse als konzentrierte Lösungen, welche die Alkaloidlösung dunkel färben und die meist nicht kristallin, sondern als Trübung auftretende Reaktion nicht erkennen lassen. Ähnliche Grenzwerte wie bei Na.-wismutjodid, wenn auch nicht so deutlich ablesbare, erhielten wir mit der Anwendung von 3 Tr. 0,1 n-Jodlösung pro cm^3 Alkaloidlösung. Theophyllin und Theobromin wurden unter diesen Bedingungen öfters kristallin gefällt. Die schwarzbraunen Kristalle entsprechen in ihrer Form den durch Na.-wismutjodid gebildeten. Ueber hellem Papier beobachtet war die Ablesung gut durchführbar. Bei Theobromin stellte sich jedoch die schon früher erwähnte störende Trübung ein. Da bei Coffein nur Trübungen auftreten, diese aber keine scharfen Grenzen ergeben, so sind die Streuung der Werte entsprechend groß.

Die Grenzwerte in γ :

Coffein (wasserfrei)	30
Theobromin	125
Theophyllin	200

Die Murexidreaktion

Die bisher beschriebenen Reagenzien sind nicht spezifisch für die Purinderivate, sondern sind den meisten Alkaloiden und ähnlichen Körpern eigen. Theobromin und Theophyllin lassen sich nun durch spezifische Reaktionen fällen, nicht aber Coffein. Farbreaktionen, wie z. B. diejenige nach Archetti²⁷ durch Reduktion von Ferricyankalium in salpetersaurer Lösung zu Berlinerblau, sind zu wenig empfindlich. Um daher Coffein neben Antipyretika nachweisen zu können, die wie Antipyrin und Dimethyl-

²⁷ Archetti, Pharm. Zentralhalle, 42, 458. (1901).

aminoantipyrin auf Jodverbindungen z. B. stark ansprechen, versuchten wir die Murexid- resp. richtiger die Amalinsäurereaktion auszubauen. Der beträchtlichen Streuungen wegen, die wir bei allen Versuchen erhielten, gehen wir hier nicht näher auf diese Reaktion ein.

Theophyllin und Theobromin lassen sich durch ihr Verhalten gegenüber Silbernitrat in alkalischer Lösung differenzieren. Theophyllin allein gibt ferner spezifische Reaktionen mit Merkuriazetat und mit Kupfersulfat + Natriumbisulfit. Die letztere Reaktion, deren Spezifität auf Theophyllin Krüger²⁸ feststellte (nach Kleiber²⁹ aber u. a. auch auf Adenin anspricht), und die auf der Reduktion des Kupfersulfates zu Kupferoxydul beruht, gibt für eine quantitative Anwendung zu wenig genaue Werte.

Theobromin und Silbernitrat

Die sowohl basische wie auch saure Eigenschaft von Theobromin zeigt sich in seiner Fällbarkeit durch Silbernitrat sowohl in saurer als auch in alkalischer Lösung, als $C_7H_8N_4O_2$, HNO_3 + $AgNO_3$ in salpetersaurem Milieu und als $C_7H_7N_4O_2 \cdot Ag + \frac{1}{2} H_2O$ mit verdünnten ammoniakalischen Lösungen³⁰. Nach unseren Beobachtungen reagiert Theobromin in beiden Fällen unter Bildung derselben Gallerte, die kaum sichtbar ist und daher für unsere Zwecke außer Betracht fiel, (jedoch durch Viskositätsmessungen quantitativ erfaßt werden könnte).

Obgleich von den meisten einschlägigen Handbüchern und von den Pharmakopöen aufgenommen, so fehlen dieser Reaktion doch genaue Vorschriften, um zu einem kristallinen Produkt zu gelangen. Nach vielen Versuchen mit verschiedenen Ammoniak- und $AgNO_3$ -Konzentrationen und verschiedener Zeitdauer des Kochens über offener Flamme oder im Wasserbade, kamen wir zu folgender Anwendungsvorschrift:

1 cm³ der Theobrominlösung wird mit einem Tr. Ammoniak 10% und mit 3 Tr. 0,1n- $AgNO_3$ versetzt und genau 5 Minuten lang in einem spru-

²⁸ M. Krüger, B., 32, 2823 (1899).

²⁹ G. Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse, Wien 1933, T. III, p. 386.

³⁰ Lebeau und Courtois, éd. 1947, t. IV, p. 3887.

delnden Wasserbade erhitzt, wobei das Bad von Anfang an die Siedetemperatur haben muß. Daraufhin wird 15 Minuten lang in fließendem Wasser gekühlt. Die positive Reaktion zeigt sich durch eine weißliche Trübung oder Ausflockung an, die sich allmählich kristallin abscheidet.

Die Ausfällung ist amorph. Die Abscheidung von Silberdiamin tritt unter diesen Bedingungen nicht ein. Wir brachten dennoch stets Vergleichslösungen zur Anwendung.

Der Grenzwert = 250 γ .

Theophyllin und Silbernitrat

Zum Unterschied zu Theobromin, dessen gelatinöse Fällung mit Silbernitrat in neutraler Lösung durch Ammoniakzusatz aufgelöst wird und erst wieder durch Erhitzen ausfällt, wandelt sich bei Theophyllin die erstgebildete Gallerte innerhalb 5—15 Minuten in kalter Lösung zu einer weißlichen Trübung oder feinkörnigen Flockung um. Wir brachten die gleichen Reagensmengen zur Anwendung, wie oben bei Theobromin beschrieben wurde. Die Reaktion ist sehr empfindlich, der Grenzwert liegt bei 15 γ . Der Einfluß der Temperatur äußert sich nicht in der Empfindlichkeit, sondern in der Beschaffenheit des feinsuspendierten Niederschlages, der bei 20° C. körniger ausfällt als bei höheren Temperaturen.

Theophyllin und Merkuriazetat

Diese schöne Fällung mit typischen bikonvexen, stark spitz zulaufenden Kristallen, ist wie die meisten Reaktionen mit Quecksilbersalzen sehr von der Konzentration des Fällungsmittels abhängig, während der Säurezusatz von untergeordneter Bedeutung ist. Wir stellten eine 1%ige Lösung von Merkuriazetat her, der wir gerade die notwendige Menge Essigsäure zusetzten, nämlich 1 cm³ Eisessig pro 100 cm³ Reagens. Innerhalb des Temperaturintervalles von 14—24° fand keine merkliche Verschiebung des Grenzwertes statt. Da die Lösungen besonders hartnäckig im übersättigten Zustande verharren, auf den geringsten Reiz aber plötzlich stark ausfallen, ist das gleichmäßige Durchschütteln unerlässlich.

Den Grenzwert stellten wir bei 235 γ fest.

b) Die Reagenzien der Analgetika

Unter den zur Untersuchung gelangten Analgetika zeichnet sich Antipyrin durch eine besondere Reichhaltigkeit der Reaktionsmöglichkeiten aus, Dimethylaminoantipyrin, Phenazetin und Laktophenin hingegen waren nur wenigen Fällungen zugänglich; sie sind bisher meist nur durch Farbreaktionen gekennzeichnet worden.

Gemeinsame Reaktionen von Antipyrin und Dimethylaminoantipyrin (Di-pyrin).

Natriumwismutjodid, Kaliumantimonjodid und Jodlösung, angewandt wie bei den Purinderivaten, ergeben Grenzwerte in der Größenordnung zwischen 7 und 1 γ , lassen daher genaue Messungen nicht zu. Mayers Reagens gibt im Vergleich dazu in saurer Lösung bis 125 γ an, Jodlösung in neutralem Milieu ebenfalls bis 125 γ . Im Gegensatz zu den Purinderivaten reagieren Antipyrin und Dimethylaminoantipyrin mit Natriumwismutjodid in stark essigsaurer oder kochsalzgesättigter Lösung.

Die meisten in der Literatur angeführten Reaktionen auf Antipyrin sind auch Di-pyrin eigen und umgekehrt. Auch bei sehr vielen spezifischen Reaktionen mußten wir feststellen, daß sie nur empfindlicher auf einen der beiden Stoffe sind, unter gegebenen Umständen aber beide ausfallen. (Wir haben prinzipiell alle Reaktionen, die wir aufgenommen haben, auf ihre Spezifität innerhalb der von uns ausgewählten Stoffgruppen geprüft.) Wiederholt wird die für Antipyrin zur analytischen Trennung dienende Verbindung mit Chloral oder Trichloressigsäure erwähnt³¹⁻³³, ein Phenyl- 2,3-dimethyl- 4(β,β,β -trichlor- α -oxy-aethyl)-pyrazolon(5), Kristalle mit dem Schmelzpunkt 79—80°, die in wäßriger Lösung wenig beständig sind und in ihre Bestandteile gespalten werden. Gleichermaßen verhält sich das je nach Umständen gebildete Dichloralantipyrin $C_{11}H_{12}N_2O$, 2 $CCl_3CH(OH)_2$. Die entsprechenden Verbindungen mit Di-pyrin, die noch unbeständiger sind, erhielten wir schon bei einer Reagenskonzentration, wie sie Ribère³² für Antipyrin als spezifisch angab. In

³¹ L. Reuter. Pharmaz. Zeitg. 35, 174 (1890).

³² M. Ribère. Journ. d. Pharm. et d. Chim. 12 (8), 444 (1930).

³³ L. Debucquet. Journ. de Pharm. et de Chim. 30 (7), 121 (1924).

der Folge übernahmen wir die Anwendung von Trichloressigsäure nur noch für die Verstärkung anderer Reaktionen oder in kochsalzgesättigter Lösung zur quantitativen Ausfällung, die uns dann einen Nachweis von Coffein neben Antipyrin erlaubte.

Die Sättigung von Lösungen mit Kochsalz war uns nicht nur im obigen Falle, sondern allgemein dann eine Hilfe, wenn die Empfindlichkeit einer Reaktion erhöht werden mußte. Die einzelnen Rö der Verdünnungsreihe wurden dabei mit mindestens 0,5 g NaCl pro cm³ Lösung versetzt. Die ungelösten Kochsalzkristalle, die sich am Boden des Rö ansammeln, lassen sehr gut noch eine Beobachtung in der darüberstehenden Lösung zu. Die zu untersuchende Lösung kann auch schon von Anfang an mit Kochsalz gesättigt und als gesättigte Lösung auf ein bestimmtes Volumen gebracht werden. Die einzelnen Rö der Verdünnungsreihe versetzten wir dann mit gesättigter NaCl-Lösung statt mit Aq. dest.. Während in diesem Falle wie gewöhnlich auf ein Rö 1 cm³ Lösung (resp. 2 cm³ bei der Interpolation) entfallen, weisen im ersteren Falle die Rö eine Volumenzunahme von 13 % auf (nichtgelöstes NaCl nicht einberechnet) entsprechend dem Volumen des bei 20° gelösten Kochsalzes.

Nach Rosenthaler¹¹ fällt Neßler's Reagens Dimethylaminoantipyrin. Wir stellten eine Empfindlichkeit von ca. 1 mg fest, wenn auf 1 cm³ Dimethylaminoantipyrinlösung 1 cm³ Reagens angewandt wurde. Nach Sättigung mit NaCl sind durch eine sofort eintretende starke Trübung 125 γ Di-pyrin gut und genau erfaßbar. Unter gleichen Bedingungen reagiert Antipyrin bis zu 350 γ. Wegen der geringen Haltbarkeit der Reagenslösung (Trübung) sind Vergleichsversuche mit Blindlösungen unumgänglich. Die Fällung mit Di-pyrin besteht nach Raikow und Kulumow³⁴ aus $C_{13}H_{14}ON_3 \cdot HgJ_2 \cdot HJ$.

Die Reaktionen von Antipyrin mit Kaliumferrocyanid:

Kolthoff³⁵ fällte Antipyrin aus salzsauren Lösungen quantitativ als Hydroferrocyanid aus, $(C_{11}H_{12}N_2O)_2 H_4[Fe_3(CN)_6]$,

³⁴ Raikow und Kulumow. Oestr. Chem. Ztg. 8, 445 (1905), ref.: Jahresber. d. Pharm. 321 (1905).

³⁵ I. M. Kolthoff. J. Am. Pharm. Ass. 10, 947 (1933).

mit dem Molekulargewicht 592,1. Er versetzte 5 cm³ Antipyrinlösung mit 2 cm³ einer 0,5 molaren Kaliumferrocyanidlösung und 0,5 cm³ Salzsäure verschiedener Konzentrationen und erfaßte bei optimalen Bedingungen 2,5 mg Antipyrin.

Der in typischen großen Kreuzformen kristallisierende Niederschlag erreichte nach unseren Versuchen die äußerste Empfindlichkeit bei 1,2 mg. Unsere Reagensmengen waren dabei für je 1 cm³ Antipyrinlösung: 1 Tr. HCl 25 % und 1 Tr. einer bei 20° gesättigten (ca. $\frac{3}{4}$ molaren) Kaliumferrocyanidlösung. Sowohl mehr, als auch weniger Säure vermindert die Empfindlichkeit. In NaCl-gesättigter Lösung mußten wir die HCl durch H₂SO₄ ersetzen, da HCl die Löslichkeit von NaCl zurückdrängt. Damit konnten wir zugleich die in salzsauren Lösungen sehr rasch auftretende Blaufärbung verhindern. Bei Anwendung von 2 Tr. Reagens und 1 Tr. verd. H₂SO₄ (ca. 2n) beobachteten wir die Grenzreaktion bei 225 γ . Die Bildung der Kristalle tritt langsam ein und ist auf Temperaturschwankungen empfindlich.

mit Natriumnitrit:

Die Nitrosoreaktion, wohl die häufigste Farbreaktion auf Antipyrin, konnten wir in Kombination mit Trichloressigsäure und NaCl-Lösung als Fällung erhalten. Die Reaktion verläuft folgendermaßen: Mit 2 Tr. 80%iger Trichloressigsäure trübt sich die mit NaCl bis zur Sättigung versetzten Antipyrinlösung; beim Zusatz von 2 Tr. NaNO₂ 10 % klärt sich die Trübung spontan wieder auf unter starker Entwicklung von nitrosen Gasen. Aus der gelben Lösung scheiden sich nach ca. 2 Min. braune Flocken aus, die von den Gasbläschen an die Oberfläche getragen werden oder sich am Glase festkleben. Bei den Grenzverdünnungen verschwinden die braunen Flocken, die bei sofortigem Schütteln des Reagensgläschens auch gelblich schwammig ausfallen können, nach kurzer Zeit wieder, und es tritt erneut die milchige Trübung von Trichloraceto-Antipyrin auf. Als Grenze nahmen wir das Auftreten der Flockung, die als temperaturempfindliche Reaktion bei 20° C. nach 400 γ Antipyrin anzeigt. Dimethylaminoantipyrin reagiert bei gleicher Versuchsanordnung mit der bekannten durch Oxydation sich bildenden Violettfärbung.

mit Ferrichlorid:

Wie beim Natriumnitrit gingen unsere Versuche dahinaus, die Rotfärbung mit Ferrichlorid mit irgend einer empfindlichen Fällung zu verbinden. Eine Kombination mit Quecksilberchlorid beschrieben Millard und Campell Stark³⁶, die dadurch in Antipyrinlösung einen ziegelroten Niederschlag erhielten, den sie einzig durch seinen Schmelzpunkt von 73° näher charakterisierten. Ein geeigneter Ausbau dieser Reaktion gelang uns mit folgenden Reagenzien: Quecksilberchlorid R. Ph.H.V und Ferrichloridlösung 5 %. In 1 cm³ Antipyrinlösung konnten wir mit 5 Tr. HgCl₂-Reagens und 1 Tr. FeCl₃-Lösung nach leichtem Durchschütteln innerhalb einer Minute 800 γ Antipyrin mit guter Grenze wahrnehmen.

Eine direkte Ausfällung des Ferripyrins mit FeCl₃-Lösung bewirkte wiederum die Sättigung mit NaCl. Nach Weinlang und Schmid³⁷ besteht das Ferripyrin aus dem Tetrachloroferri-Salz eines Hexaantipyrinkations (Fe-Antipyrin₆)(FeCl₄)₃. Die gelbrote, gegen die Grenzkonzentration hin mehr gelbe Lösung ergibt beim Schütteln eine Ausfällung von gelben, amorphen Kristallen, die sich alsbald an der Oberfläche der spezifisch schwereren NaCl-Lösung ansammeln. Die besten Resultate ergab ebenfalls FeCl₃-Reagens 5 %, und zwar 1 Tr. pro 1 cm³ NaCl-gesättigte Antipyrinlösung. Bis zu einer Verdünnung von 1:16 500, entspr. ca. 60 γ pro 1 cm³ NaCl-gesättigter Lösung, kann die Ausflockung nach jeweiligem leichtem Durchschütteln festgestellt werden; sie löst sich aber nach 2—3 Minuten wieder auf. Eine nach 10 Minuten noch beständige Fällung tritt erst bei einer Konzentration von 70 γ Antipyrin pro cm³ ein.

mit Merkurinitrat:

Das von Ribère³² vorgeschlagene Reagens, ein nitriethaltiges Quecksilberniträt in saurer Lösung, zeigte sich bei der Anwendung eines Tropfens pro cm³ der zu untersuchenden Lösung allein als zu wenig empfindlich. Durch Erhitzen und Abkühlen

³⁶ E. J. Millard und A. Campell Stark. The pharm. J. and Transact. 1034 (1890), ref.: Jahresber. d. Pharm. 398 (1890).

³⁷ Weinland und Schmid. Arch. d. Pharm. 261, 4 (1923).

aber bildet sich aus dem weißlichen Niederschlag oder der grünlichgelben Nitrosoantipyrinlösung eine ziegelrote Fällung, die bedeutend mehr Antipyrin erfassen kann. Wird das Fällungsmittel noch mit gleichen Teilen Wasser verdünnt, so erreicht man die Grenze bei 700 γ Antipyrin. Der Nitritgehalt der Reagenslösung nimmt nach einiger Zeit ab und damit auch die Reaktionsfähigkeit. Wir fügten daher gleichzeitig mit dem Reagens 1 Tr. einer 1%igen Natriumnitritlösung zu. Die Empfindlichkeit des durch Erwärmen ausfallenden roten, in stark verdünnter Lösung gelben Niederschlages hängt von der Dauer des Erwärmens auf dem Wasserbade ab: Schon 2 Minuten im sprudelnden Wasserbade bewirken maximale Ausfällung, während nach 5 Minuten nur noch 4/5 der Antipyrinmenge erfaßt werden. Die mit 1 Tr. verdünntem Merkurinitrat-Reagens und 1 Tr. NaNO_3 -Lösung 1 % ausgeführte Reaktion ergibt den genauen Grenzwert von 90 γ , wenn nach dem Erhitzen während 15 Minuten in Wasser von 20° C. gekühlt wurde.

Schon Ribère erwähnte die Erhöhung der Empfindlichkeit seines Reagens durch gleichzeitige Anwendung von Trichloressigsäure. Unsere Versuche bestätigten diese Beobachtung, doch war der Uebergang von der positiv zur negativ ausfallenden Reaktion schlecht zu sehen.

Quecksilbersalzlösungen verschiedenster Zusammensetzung prüften wir auf ihre Anwendungsmöglichkeit bei den Barbitursäuren (siehe weiter unten). Dieselben Reagenzien ließen wir auch auf Antipyrin einwirken und konnten dabei feststellen, daß Quecksilbersulfat in neutraler oder saurer Lösung (Denigès Reagens) keinerlei Reaktion verursacht, wohl aber in Gegenwart von Trichloressigsäure. Millon's Reagens unverdünnt fällt bis 160 γ mit guter Grenze, während eine 1 + 1 verdünnte Reagenslösung, die sich bei den Barbitursäuren als weit empfindlicher erweist, eher schwächer reagiert. Ein Zusatz von Natriumnitrit verhindert die Fällung. Die Reaktion zeichnet sich bei Antipyrin durch eine starke Schaumbildung beim Schütteln aus. Trichloressigsäure 80 % erhöht die Empfindlichkeit auf 110 γ , die Grenze ist aber ungenau. Wir untersuchten mit Millon's Reagens versetzte Lösungen auch auf ihr Verhalten beim Erwärmen, wobei wir mit einem geringen Nitritzusatz eine ähnlich gefärbte Fällung erhiel-

ten wie beim Reagens nach Ribère, sie fällt jedoch durch längeres Kochen besser aus als nur durch kurzes Erwärmen. Bei diesen Versuchen mit Quecksilberreagenzien fügten wir zu 1 cm³ Antipyrinlösung je 1 Tr. Reagens. Bei der letzteren Reaktion erwies sich beim Erwärmen das 1 + 1 verdünnte Millon's Reagens zusammen mit einem Tr. Natriumnitritlösung 1 % als am wirksamsten, erfaßte es doch noch 23,5 γ Antipyrin, das unverdünnte Reagens nur 32,5 γ, beide bei einer Kochzeit von 5 Minuten. Zum Unterschied von den Barbitursäuren (außer Allobarbital) löst sich die Antipyrinfällung nicht in 1n-HCl. Dimethylaminoantipyrin ergibt bei gleichen Versuchsbedingungen einen undeutlichen, gelatinösen Niederschlag von ebenfalls rötlicher Farbe bis zu einer Verdünnung von 1:60 000 ohne genaue Grenze.

Uebersicht

Das Reagens:	Natur des Niederschlages:	Empfindlichkeit: in γ :	
Kaliumferrocyanid	kreuzförmige Kristalle	200	ca. 1:5000
NaNO ₂ 10 % + Trichloressigsäure + NaCl	amorphe, braune Flocken	400	1:2500
Ferrichlorid + HgCl ₂	ziegelrot	800	1:1250
Ferrichlorid + NaCl	gelbe, amorphe Flocken	70	1:14 000
Merkurinitrat nach Ribère	kalt: weißlich	700	ca. 1:1400
Merkurinitrat nach Millon	warm: rot-gelb	90	ca. 1:11 100
	kalt: weiß	160	1:6250
	warm: rot-gelb	23,5	ca. 1:42 500

Tabelle 3

Die Reaktionen von Dimethylaminoantipyrin

Die Reduktionswirkung von Di-pyrin läßt sich an Eisen-, Kupfer- und Silbersalzen nachweisen. Schärfere Reaktionsgrenzen ergeben aber nur komplexe Ferri- oder Cupro- und Cupriverbindungen. Doch gelang es uns lange nicht, ein Kupferreagens

herzustellen, dessen Zusammensetzung eindeutig war und das reproduzierbare Werte ergab.

mit Kaliumferricyanid:

Die Forderung auf eindeutige Zusammensetzung erfüllt das u. a. von der U.S.P. XIII³⁸ angeführte Reagens, eine Kaliumferricyanidlösung mit wenig Ferrichlorid, das mit Di-pyrim eine empfindliche Blaufärbung und leichte Ausflockung durch Bildung von Berlinerblau entwickelt. Die erzielten Werte waren aber nicht genau.

mit Kaliumkupfercyanid:

Kolthoff und Hamer³⁹ wiesen mit Pyrimidon und Kaliumrhodanid aus Kupfersalzlösungen Kupfer als dunkle Ausfällung nach. Wir versuchten nun umgekehrt durch die Reduktion von löslichen Cuprisalzen oder Cuprokomplexen zu unlöslichen Cuproverbindungen Di-pyrim festzustellen, (das dabei seinerseits zu den bekannten violetten Verbindungen oxydiert wird). Die Versuche mit Kalium- und Ammoniumrhodanid und verschiedenen löslichen Kupfersalzen scheiterten, da ein auf Di-pyrim ansprechendes Cuprirrhodanid in starker Verdünnung selbst langsam zu unlöslichem Cuprorhodanid reduziert wird. Die Reaktionen mit Cuprocyanidlösungen, aus Kupfersalzen und Kaliumcyanid oder direkt aus grünem Kupfercyanid hergestellt, sind in ihrer Empfindlichkeit vom Gehalt an freier Cyanwasserstoffsäure abhängig. Auch unter konstanten Bedingungen bereitete Lösungen zeigten bei der Titration der freien Cyanwasserstoffsäure unterschiedliche Werte, was aber schon genügte, um bei der Bestimmung des Grenzwertes eine Streuung von über 100 % zu erhalten.

Eine 10%ige Lösung von Kaliumkupfercyanid Merck $K_3[Cu(CN)_4]$, (ein sich aus Kupfercyanür mit überschüssigem Kaliumcyanid bildendes weißes, wasserlösliches und alkalisch reagierendes Komplexsalz), die wir vor Gebrauch jeweils mit Essigsäure versetzten, verhalf uns zu guten Resultaten. Die Kaliumkupfercyanidlösung ist gut haltbar, die angesäuerte Rea-

³⁸ U.S.P. 13th rev., 1947, p. 33.

³⁹ J. M. Kolthoff und H. Hamer, Pharm. Weekbl. 61, 1222 (1924), ref.: Helv. Chim. Acta, 12, 718 (1929).

genslösung hingegen gibt nur ca. 12 Stunden lang die gleichen Werte und muß daher jedesmal frisch bereitet werden. Zu ihrer Herstellung vermischten wir unter dem Abzug 5 cm³ Stammlösung in kleinen Anteilen mit 2,5 cm³ 2n-Essigsäure, wobei der dabei entstehende Niederschlag durch gelindes Umschwenken jedesmal wieder in Lösung gebracht wurde. Das Arbeiten mit diesem Reagens muß mit Vorsicht geschehen, da sich viel freies Cyan (CN)₂ entwickelt. Die weiße, körnige Fällung, die mit 1 Tr. Reagens pro cm³ Di-pyrinlösung eintritt, ist stark von der Temperatur abhängig; sie stellt sich bei 20° noch mit 80 γ ein.

Die Reaktionen von Phenazetin und Lakto-phenin

Zum Nachweis der Phenetidine fehlt es nicht an den mannigfaltigsten Farbreaktionen. Charakteristische und empfindliche Fällungen waren uns aber nicht bekannt. Bei einigen Farbreaktionen gehen Ausfällungen oder opaleszierende Trübungen nebenher, die wir versuchten, für unsere Zwecke zu erfassen. Dies trifft hauptsächlich für die Färbungen zu, bei denen das aus Phenazetin oder Laktophenin durch Verseifung freigemachte p-Phenetidin irgendwie oxydiert wird. Zur Herstellung der Verdünnungsreihe wählten wir in diesem Falle die der Azidität der verseiften Lösung entsprechende verdünnte Salzsäure.

mit Chromsäure:

Die zuerst von Ritsert⁴⁰, später u. a. von Barral⁴¹, Fulmer⁴² und Brocksmit⁴³ erwähnte Reaktion zeichnet sich durch eine im auffallenden Lichte permanganatartige, im durchscheinenden Licht kirschrote Färbung aus. Nach Brocksmit zeigt sich dabei ein blaugrüner Niederschlag, was auch für konzentrierte Lösungen zutrifft, haltbare Lösungen von p-Phenetidin (ca. 1:500) hingegen lassen nach 2—3 Minuten, verdünntere Lösungen nach 5—10 Minuten, mit dem Abnehmen der Intensität der Färbung

⁴⁰ E. Ritsert, Pharm. Zeitung, 33, 383 (1888).

⁴¹ E. Barral, Journ. d. Pharm. et d. Chim. 19 (5), 237 (1904).

⁴² Fulmer, Apoth. Zeitung, 95, 964 (1905).

⁴³ Brocksmit, Pharm. Zentralhalle. 57, 274 (1916).

eine Opaleszenz erkennen, die nach ca. 20 Minuten wieder verschwindet. Zu ihrer Beobachtung müssen die Gläschen nahe an einer starken Lichtquelle mit Blindlösungen verglichen werden. Die Streuung bei der Ablesung bewegt sich zwischen ± 10 —15 %. Als Grenzwert ermittelten wir für Phenazetin 600 γ , für Laktophenin 1000 $\gamma = 1$ mg. Diese maximale Empfindlichkeit erreichten wir mit der Anwendung von 1 Tr. einer 10%igen Chromsäurelösung pro 1 cm³ der salzsauren Lösung.

mit Hypochlorit:

Chlorkalk bringt nach Liebermann und Konstanecki⁴⁴ in salzsaurer Lösung von Phenazetin rote Färbung und Fällung hervor. Wiederum trifft diese Feststellung nur für ganz konzentrierte Lösungen zu, doch trübt Chlorkalklösung verdünntere p-Phenetidinlösungen milchig. Die Entstehung einer ähnlichen milchigen Trübung gibt Ekkert⁴⁵ an, der auf die hydrolisierte Phenazetinlösung Chloramin einwirken läßt. Die Reaktion ist aber nicht eindeutig, da in diesem Falle die Trübung und auch eine beschränkte Färbung beim Ansäuern schon allein von Chloramin bewirkt wird. Ein Reagens mit genauer Zusammensetzung, das die gleiche Trübung wie Chlorkalk ergibt, fanden wir in der Solutio Natrii hypochlorosi chirurgicalis der Ph.H.V, die in der im Handel befindlichen konzentrierten Lösung mit 6-fach höherem Gehalt an aktivem Chlor genügend stark reagiert. Wird 1 cm³ p-Phenetidinlösung mit 2 Tr. 2n-Natriumkarbonat und hierauf mit 1 Tr. Reagenslösung unterschichtet und höchstens ganz leicht vermischt, so zeigt sich eine Rosafärbung und bald hernach eine stark rötliche, bei hoher Verdünnung gelbliche Trübung, die einige Zeit lang anhält. Die Grenzreaktion tritt beim verseiften Phenazetin bei 500 γ ein, bei Laktophenin bei 750 γ , in beiden Fällen auf das unverseifte Ausgangsprodukt bezogen.

mit Jodlösung:

Die komplexen Metalljodide geben in der durch die Schwerlöslichkeit bedingten rel. hohen Phenazetinverdünnungen keine

⁴⁴ C. Liebermann und St. v. Konstanecki, B, 17, 884 (1884).

⁴⁵ E. Ekkert, Pharm. Zentralhalle, 71, 625 (1930).

Reaktion, ebensowenig in den konzentrierten hydrolysierten Lösungen. Jodlösung jedoch scheidet charakteristische Kristalle aus, die nach Emery⁴⁶ ein Gemisch des Hydrojodids des Tetra-jodophenazetins $(C_{10}H_{13}NO_2)_2J_4 \cdot HJ$ mit weniger jodierten Verbindungen darstellen. Die Jodlösung mußten wir konzentriert und in stark schwefelsaurer Lösung anwenden. Ein Tr. des n-Jodjodkaliumreagens erreicht in einer mit 3 Tr. konz. H_2SO_4 versetzten Phenazetininlösung (1 cm^3) eine Empfindlichkeit von 140 γ bei 20°, in der hydrolysierten Lösung eine solche von 80 γ . Laktophenin reagiert nicht.

c) Die Reagenzien der Barbitursäuren

Die Liste der von uns untersuchten Reagenzien auf die verschiedenen Barbitursäurederivate und ihre Na- oder Ca-Salze umfaßt mehrere Quecksilbersalzlösungen und Silberbitrat:

Millon's Quecksilbernitrat,
Denigès Quecksilbersulfat,
ein „neutrales“ Quecksilbersulfat,
Quecksilberchlorid R. der Ph.H.V.,
gesättigte Quecksilberchloridlösung,
0,1n-Silbernitrat.

Die Anwendung von Quecksilbernitrat zur Fällung von Barbitursäuren wird Molle⁴⁷ und Tagliarini⁴⁸, die Reaktion von Quecksilberchlorid mit den Na-Salzen Lami⁴⁹ zugeschrieben. Zimmermann⁵⁰ gibt Grenzwerte für Millon's Reagens mit Veronal und Luminal an. Doch erst Fleury⁵¹ klärte die Zusammensetzung der entstehenden Niederschläge auf. Er führte zugleich mit dem von Lemaire⁵² gebrauchten Reagens von Denigès ein „neutrales“ Quecksilbersulfat-Reagens ein, das nach seinen Angaben bedeu-

⁴⁶ W. O. Emery. J. Am. Chem. Soc. 38, 144 (1916).

⁴⁷ B. Molle. Arch. d. Pharm. 242, 405 (1904).

⁴⁸ Tagliarini. Bull. Chim.-Formac. 45, 105 (1906), ref. P. Fleury, siehe unten.

⁴⁹ P. Lami. Bull. Chim.-Formac, 53, 193 (1914), ref.: P. Fleury, siehe unten.

⁵⁰ Zimmermann. Apoth. Zeitung. 43, 382 (1920).

⁵¹ P. Fleury. J. d. Pharm. et d. Chim. 2 (8), 465 (1925).

⁵² P. Lemaire. Bull. trav. soc. pharm. de Bord. 44, 37 (1904), ref.: Harms, Reagenzien und Reakt. des D.A.B. 6, Berlin 1928, p. 121.

tend empfindlicher sein solle. Nach Fleury bestehen die Niederschläge aus Verbindungen mit wechselnden Mengen HgO , für Barbital z. B. mit Denigès Reagens 3 Barbital, 2 HgO , mit dem „neutralen“ Reagens 3 Barbital, 2,5 HgO . Eine Ausnahme machen die Allylverbindungen, die nach dem obigen Autor in stark verdünnten Lösungen HgO zu absorbieren scheinen, z. B. zu 3 Allobarbital, 6 HgO . Die Reaktionen von Allobarbital und in beschränktem Maße auch von Allylisopropylbarbital fallen auch sonst aus dem Rahmen des für die übrigen freien Barbitursäuren geltenden Reaktionsverlaufes. Wird 1 cm^3 einer Allobarbital-Lösung mit 1 Tr. des von Fleury als neutral bezeichneten Reagens versetzt, so fällt nicht die normale gelatinöse Flockung aus, sondern die Lösung bleibt längere Zeit klar, um dann in eine sehr empfindliche Trübung überzugehen. Dasselbe gilt auch für die Reagenzien nach Millon und Denigès. Quecksilberchlorid in gesättigter Lösung reagiert auf Allobarbital als die einzige der freien Barbitursäuren; die Reaktion ist allerdings so empfindlich, daß wir den Grenzwert nicht erfassen konnten. Hingegen ergab die Anwendung in heißer Lösung den genauen Wert von 35 γ , wobei gleiche Teile Allobarbital-Lösung und Reagens 3 Minuten lang im kochenden Wasserbade erhitzt wurden. Diese Reaktion ist spezifisch für die Diallylbarbitursäure und tritt in verdünnteren Lösungen (über 1:2000 hinaus) auch nicht mit den Na- und Ca-Salzen anderer Barbitursäuren ein. Eine weitere Möglichkeit der Unterscheidung des Allobarbitals von den andern freien Barbitursäuren besteht in der relativen Schwerlöslichkeit seiner Hg-Niederschläge beim Ansäuern mit verdünnter HCl , wenn der Säurezusatz erst nach eingetretener Trübung erfolgt. Die Trübung nimmt zwar zuerst etwas ab, macht dann aber einer feinen, kleinflockigen Ausfällung Platz, für die wir einen Grenzwert von 8 γ feststellten.

Die Reaktionen der Na- bzw. der Ca-Salze sind nach Rupp und Poggendorf⁵³ auf den Austausch des Na^+ und Ca^{++} gegen Ag^+ oder HgCl^+ zurückzuführen. Phenobarbital-Natrium z. B. ergibt Phenobarbital- HgCl .

Bei den Quecksilberreagenzien erhielten wir mit der Anwendung von 1+1 verdünnten Reagenslösungen (vgl. p. 9) durch-

⁵³ E. Rupp und A. Poggendorf. Arch. d. Pharm. 269, 607 (1931).

wegs empfindlichere Werte. Anders sind die Verhältnisse bei 0,1 n-AgNO₃, wo mit vermehrtem Zusatz an Fällungsmittel die Empfindlichkeit erheblich steigt. Wir fügten daher für 1 cm³ Barbitursäure-Lösung 10 Tr. Reagens zu. Beim Zutropfen des Fällungsmittels war vorerst meist nur eine geringe gelatinöse Ausfällung zu beobachten, die wir durch 10 Sekunden langes Durchschütteln verdeutlichten, bis zur Ablesung aber ca. 5 Minuten verstreichen ließen, damit sich die Luftbläschen entfernten.

Die Grenzwerte (Werte in γ):

Barbitursäuren- und Salze:	Millon's 1+1	Denigès 1+1	HgSO ₄ „neutr.“	HgCl ₂ R. 1+1	AgNO ₃
Diaethyl-	100	45	37,5	—	—
Diaethyl-Na-Salz	120	60	50	160	60
Phenylaethyl-	32,5	16,3	13,8	—	—
Phenylaethyl-Na-Salz	35	17,5	14	45	35
Cyclohexenylaethyl-	37,5	18,8	17,5	—	—
„ „ Ca-Salz	35	17,5	15	45*	35
Allylisopropyl-	85	55**	50**	—	—
Diallyl-	10***	20***	10***	—	—

* Die Flockung löst sich wieder; dieser Wert gilt für eine mindestens 15 Min. sichtbare Ausfällung.

** Vor der Ablesung muß mindestens 10 Min. gewartet werden. Die Werte gelten nicht für die ev. auftretende leichte Trübung.

*** Die Werte gelten für die innerhalb von 15 Minuten entstehende Trübung.

Tabelle 4.

Die Werte der gleichen Barbitursäuren mit den verschiedenen Reagenzien stehen untereinander in für alle Barbitursäuren außer Allobarbitaral geltenden Zahlenverhältnissen.

Millon's zu Denigès 1+1:	ca. 2 : 1
Denigès zu HgSO ₄ „neutr.“:	ca. 6 : 5
HgSO ₄ „neutr.“ zu HgCl ₂ :	1 : 3

III. Die Reaktionen gemischter Lösungen

In einem zweiten Teil dieser Arbeit prüften wir die Möglichkeit einer Anwendung der Grenzreaktions-Methode zur Erfassung einzelner Stoffe aus Gemischen, wobei der Einfluß bekannter und auch nicht definierbarer Beimischung zu berücksichtigen war. Bekannt war die Zusammensetzung bei den Auflösungen von Doppelsalzen und einiger galenischer Präparate wie z. B. bei Tabletten, unbekannt teilweise die Nebensstoffe der zur Untersuchung von Drogen dienenden Extraktlösungen oder der ev. vorgenommenen Aether- oder Chloroformauszüge.

1. Die Doppelsalze

Die Untersuchungen erstreckten sich auf die Doppelsalze der Ph.H.V und einige verwandte Gemische.

a) Salze des Coffeins

Antipyrino-Coffeinum citricum, Coffeino-Natr. benzoicum, Coffeino-Natr. salicylicum und Coffeinum citricum.

Die Abtrennung des Antipyrins in NaCl-gesättigter Lösung mittels Trichloressigsäure verlief in Anwesenheit von Zitronensäure nicht quantitativ, sodaß eine Bestimmung des Coffeins nicht vorgenommen werden konnte.

Natriumbenzoat, Natriumsalizylat und Zitronensäure hatten in den Mengen, die in den Doppelsalzen vorkommen, keinen Einfluß auf die Empfindlichkeit der Coffein-Bestimmung mittels Natr. wismutjodid, Kaliumantimonjodid und Jodlösung. Eine Vermehrung des Anteils an Zitronensäure bis zum 200-fachen zeigt noch keine Störung, während z. B. Natriumsalizylat in 50-fachem Anteil leicht verzögernd wirkt.

b) Die Salze von Theobromin und Theophyllin

Für Theobromino-Natr. salicylicum und Theophyllino-Natr. aceticum gilt dasselbe wie für die Coffein-Salze, nur daß gemäß der geringeren Empfindlichkeit der entsprechenden Reaktion der noch zulässige Ueberschuß an Beimischungen kleiner war.

Theophyllino-Aethylendiamin enthält 78 % Theophyllin, und diesen Anteil ergaben auch die Bestimmung mit Kaliumantimonjodid, Jodlösung und Silbernitrat. Natr. wismutjodid und Merkuriazetat fallen aber mit einem Grenzwert, der beinahe 100 % Theophyllin entspricht.

c) Die Molekularverbindung von Allylisopropylbarbitursäure mit Dimethylaminoantipyrin

Die Reaktion der Quecksilbersalze auf Allylisopropylbarbitursäure scheint ganz gering empfindlicher zu sein. Kaliumkupfercyanid wird mit unveränderten Werten durch Di-pyrimin reduziert.

2. Galenische Präparate

Es wurden nur solche Lösungen untersucht, die neben Beimischungen wie Rohrzucker, Glukose, Milchzucker, Stärke etc. als Komponenten eine bis mehrere der in dieser Arbeit erwähnten Substanzen enthielten.

Tabletten lösten wir durch Erwärmen in entsprechenden Mengen Wasser und untersuchten die filtrierte Lösung.

In verschiedenen Lösungen bewirkte ein 100-facher Zuckerzusatz nur geringe Verzögerung. Reduzierende Bestandteile störten natürlich die Bestimmungen mit Silbernitrat in ammoniakalischer Lösung. Die Einwirkung von Jodverbindungen in Anwesenheit von Stärke mußte nach Filtration von der ausgeschiedenen Jodstärke-Verbindung beobachtet werden. Doch gelang im letzteren Falle ein sehr guter quantitativer Nachweis der Purinderivate in Gemischen mit 50 mal mehr Stärke.

Wir stellten Lösungen her, die bis zu 6 Komponenten aus der Liste der von uns untersuchten Stoffe aufwiesen. Die stärkste störende Wirkung hatte Antipyrin, wenn es im Ueberschuß vorhanden war.

3. Drogen und ihre Präparate

Es lag uns fern, die Vielzahl der Coffeinbestimmungen um eine neue zu vergrößern. Es war lediglich interessant, festzustellen, in wie weit eine Extraktlösung von Ballaststoffen gereinigt werden muß, um gute Werte zu erhalten.

a) *Folium Theae*

Mit Hilfe der Sublimationsmethode nach Ugarte⁵⁴ erhielten wir Werte, die mit denjenigen der Bestimmung nach Ph.H.V. übereinstimmten. Die Ermittlung des Coffeingehaltes von Infusen durch direkte Fällung der filtrierten Lösung ergab für Natrium-Wismutjodid keine scharfe Grenzen, hingegen fielen die Werte mit Kalium-Antimonjodid genau aus.

b) *Semen Colae*

Die Fällung in der filtrierten Auflösung des nach Ugarte hergestellten Sublimates war nicht deutlich, wahrscheinlich durch die Einwirkung von empyreumatischen Stoffen. Die Ablesung erfordert einige Uebung. Die aus der Interpolation berechneten Werte waren etwas kleiner als die Gewichte der gravimetrischen Coffeinbestimmung der Ph.H.V., die nach Tobler⁵⁵ 15 % zu hohe Werte liefert.

c) *Extractum Colae sicc.*

Die direkte Fällung der heißbereiteten, wäßrigen Lösung wies nur ca. 1/3 der wahren Coffeinmenge nach. Im Gegensatz zu den Feststellungen an andern Alkaloiddrogen mit Mayer's Reagens nach Büchi⁵⁶ und in Uebereinstimmungen mit den Beobachtungen von Butz⁶ hindern die extrahierten Nebensstoffe die Bestimmung. Als störende Nebenerscheinung trat zudem noch durch das Ansäuern der Lösung eine starke Trübung auf.

Wir verfahren nun nach der Methode der Ph.H.V. und extrahierten mit Chloroform. Der Chloroformrückstand wurde in heißem Wasser aufgenommen und gefällt. Die gefundenen Werte waren meist ca. 5 % niedriger als die Werte der Bestimmung nach der Ph.H.V.

d) *Extractum Colae fluid*

Die Bestimmung wurde gleich ausgeführt wie bei Extractum Colae sicc. Auch hier waren die erhaltenen Werte ca. 5—

⁵⁴ Tr. Ugarte. J. d. Pharm. et d. Chim. 24 (7), 387 (1921).

⁵⁵ R. Tobler. Diss. Bern 1946.

⁵⁶ J. Büchi. Pharm. Acta Helv. 12, 326 (1987).

10 % kleiner als die Wägungen nach Isolierung mit der Methode der Ph.H.V. Zur Kontrolle lösten wir den vorher gewogenen Rückstand des Chloroformauszuges wie beschrieben auf und fällten ihn, um wiederum auf die gleichen, schon von Ducommun⁵⁷ beobachteten, niedrigeren Werte zu kommen, die dem tatsächlichen Coffeinanteil entsprechen.

⁵⁷ F. Ducommun, Diss, Genf 1942.

B. Experimenteller Teil

Sofern nicht besondere Angaben gemacht werden, gelten die nachfolgenden Ergebnisse nur bei Einhaltung der Versuchsanordnung, die im allgemeinen Teil besprochen wurde. Für die Tropfenzahl ist der Normaltropfenzähler der Ph.H.V mit einem Durchmesser von 3 mm maßgebend.

Coffein

Reaktion 1: mit Natrium-Wismutjodid

a) Stabilität

Mit folgenden Verfahren wurde auf die Abhängigkeit der Stabilität vom Säurezusatz geprüft:

1. Gleichbleibende Flüssigkeitsmenge und gleich viel Reagens, steigender Säurezusatz.
2. Gleichbleibender Säure- und Reagenszusatz, steigende Flüssigkeitsmenge.

a) Zu 1 cm³ Wasser wurde die Säure und dann 1 Tr. Reagens zugefügt:

Säurezusatz:	Befund:
2 Tr. H ₂ SO ₄ 2n	: Zersetzung nach 1 Stunde.
1 „ „ konz.	: Lösung noch nach 5 Tagen klar.
3 „ „ „	: Lösung noch nach 5 Tagen klar.
4 „ „ „	: Zersetzung nach 10 Minuten.
5 „ „ „	: Zersetzung sofort.

b) 1 Tr. H₂SO₄ konz. und 1 Tr. Reagens in:

1 cm ³ Wasser	: nach 5 Tagen noch klar.
2 cm ³ Wasser	: leichte Trübung nach 1 Stunde.
5 cm ³ Wasser	: sofort Hydrolyse.

Diese Verhältnisse treten nur dann ein, wenn nach dem Säurezusatz auf 20° abgekühlt wird. Schon bei 22° ist die Stabilität bedeutend vermindert und bei 25° erfolgt auch bei optimalem Säurezusatz Hydrolyse.

b) Empfindlichkeit

Zur Ermittlung der größtmöglichen Empfindlichkeit wurde 1. der Säure-, 2. der Reagenszusatz variiert:

1. Anzahl Tr. H_2SO_4 konz.:	Grenzwert für Coffein wasserfrei in γ :
1	55
2	35
3	28,5

2. Eine höhere Reagenskonzentration als 1 Tr. pro cm^3 vermindert die Empfindlichkeit sehr stark.

c) Genauigkeit

Ueber die Streuung bei der Ablesung gibt nachstehendes Beispiel Aufschluß, eine Lösung von wasserfreiem Coffein 1:20 000:

Die angegebenen Mengen Coffeinelösung wurden jeweils auf 2 cm^3 ergänzt. Die Befunde an je 3 Versuchen waren:

1,2 cm^3 (entspr. 30 γ Coffein) : 1(xxx) 2(xx),
 1,15 cm^3 (entspr. 28,75 γ Coffein) : 1(xxx) 1(xx) 1(x),
 1,1 cm^3 (entspr. 27,5 γ Coffein) : 1(xx) 2(o).

(xxx) = sehr starke Reaktion, (xx) = starke Reaktion,
 (x) = schwache Reaktion, (o) = keine Reaktion.

Praktische Anwendung:

Gemäß der Spanne zwischen gut ablesbarer und nicht mehr eintretender Reaktion liegen die gefundenen Werte bis maximal 10 % ober- oder unterhalb der tatsächlichen Coffeinmenge.

In den unten angeführten Beispielen wurde gewöhnliches, nicht wasserfreies Coffein verwendet (mit Grenzwert = 30 γ). Die Berechnungen erfolgten nach Formel III.

a) Ermittlung von Coffein aus einer reinen Lösung

Einwage Coffein in 100 cm ³ Lösung:	Durch Grenzreaktion gefundene Coffeinemengen:	
	festgestellte Basisverdünnung:	Interpolation:*
134 mg	1 : 32 entspr. 96 mg Coffein	1,4 cm ³ = 137 mg 1,3 „ = 128 „ 1,3 „ = 128 „
26,8 mg	1 : 8 entspr. 24 mg Coffein	1,8 „ = 26,6 „ 1,8 „ = 26,6 „ 1,7 „ = 28,2 „

Tabelle 5

* bei je 3 Proben ist die Menge der Basisverdünnung wiedergegeben, die auf 2 cm³ ergänzt eben noch eine Reaktion zeigte, zudem noch der Coffeingehalt, den 1 cm³ der ergänzten Lösung aufwies.

b) Einfluß von Beimischungen

1. Zucker (Rohrzucker).

2. Stärke. Das mit Säure und Reagens versetzte Coffein-Stärke-Gemisch wurde von den dunkeln Jodstärke-Partikelchen abfiltriert und die Reaktion im normal gefärbten Filtrat beobachtet.

3. Milchzucker.

4. Zitronensäure.

5. Natriumsalizylat.

Die Beimischungen wurden in Lösungen von 1:100 gebraucht und zu je 1,2 cm³ Coffeinelösung 1:20 000, entspr. 30 γ Coffein pro cm³, zugesetzt.

Zusatz an Beimischung:	Verhältnis	
	Coffein:Beimischung	Beobachtung
1. 0,5 cm ³ = 2,5 mg	ca. 1:80	normale Reaktion
0,8 „ = 4 „	ca. 1:130	Verzögerung
2. 0,2 „ = 1 „	ca. 1:33	normale Reaktion
0,5 „ = 2,5 „	ca. 1:80	Verzögerung

3.	0,5 cm ³ = 2,5 mg	ca. 1:80	leichte Verzögerung
	0,8 „ = 4 „	ca. 1:130	sehr schwache Reaktion
4.	0,8 „ = 4 „	ca. 1:130	normale Reaktion
5.	0,1 „ = 0,5 „	ca. 1:17	normale Reaktion
	0,3 „* = 1,5 „	1:50	leichte Verzögerung.

* bei stärkerem Zusatz fällt freie Salizylsäure aus.

Tabelle 6

6. Natriumbenzoat. Coffein-Bestimmung in Coffeino-Natr. benzoicum.

Stammlösung (b) = 1:1000 (d. h. 0,1 g in 100 cm³),

Basisverdünnung für Interpolation = 1:16 000, die Verdünnung (c) = 16 x.

Die Ermittlung von a (siehe Formel II) ergab:

1,8 cm³ : gute Reaktion,

1,7 cm³ : keine Reaktion.

Der Grenzwert (G) von Coffein = 28,5γ.

Die Berechnung des Prozentgehaltes (P) an Coffein:

a cm³ pro 2 cm³ enthalten $2 \cdot 28,5\gamma$ Coffein. In 1 cm³ sind $\frac{2 \cdot 28,5}{a}$ enthalten, in 1 cm³ der Stammlösung b folglich c mal mehr = $\frac{2 \cdot 28,5 \cdot c}{a}$ oder auf b cm³ der Stammlösung bezogen = $\frac{2 \cdot 28,5 \cdot b \cdot c}{a}$ γ, resp. $\frac{2 \cdot 28,5 \cdot b \cdot c}{a \cdot 1000}$ mg. Ist d die zu untersuchende Substanzmenge in Grammen, und b = 100 cm³, so berechnet sich der Prozentgehalt nach:

$$P = \frac{2 \cdot c \cdot g \cdot 100 \cdot 100\%}{a \cdot d \cdot 1000 \cdot 1000} = \boxed{\frac{2 \cdot c \cdot G}{a \cdot d \cdot 100} \%} \quad (IV)$$

$$\text{Für unser Beispiel: } P = \frac{1,8 \cdot 0,1 \cdot 100}{2 \cdot 16 \cdot 28,5} \% = 50,6 \%$$

Theoretischer Wert = 47,5 %; Fehler = ca. 6,5 %.

c) Bestimmung von Coffein aus Drogen

1. Folium Theae

Aus der Sublimationsmethode nach Ugarte⁵⁴, die in ihrer Anwendung für die gravimetrische Bestimmung nach den kritischen Betrachtungen von Oehrli⁵⁸ wenig vertrauenserrückend ist, ließ sich für die Anbringung der Grenzreaktionsmethode eine interessante Abwandlung schaffen.

Die von Ugarte veröffentlichte Vorschrift lautet:

Man wägt genau 0,5 g der fein pulverisierten Substanz ab und bringt sie in einen trockenen Kjeldahlkolben von 500 cm³. Mit einem Pinselchen werden alle Partikelchen, die beim Einfüllen im Kolbenhals geblieben sind, quantitativ auf den Grund des Kolbens gewischt. Mit Hilfe einer 2—3 cm hohen Gasflamme bringt man das Pulver langsam zur Verkohlungs. Wenn nötig, kann dieser Vorgang durch gelindes Schütteln des Kolbens erleichtert werden. Zuletzt muß die Substanz eine einheitliche, schwarze Farbe annehmen. Beim Entwickeln von weißen, dichten Dämpfen läßt man dieselben durch Wegnahme der Flamme zurückfallen.

Der Autor läßt dann durch maximal 20 cm³ kochendes Wasser ausziehen, filtriert und dampft das Filtrat ein. Nun schüttelt er mit Chloroform aus, behandelt den Auszug nochmals mit Wasser und wägt nach Abdampfen den Rückstand.

Wir haben die obige Vorschrift wie folgt ergänzt:

1 g Folium Theae pulv. (V) (genau gewogen) wird quantitativ in einen Kjeldahlkolben von 500 cm³ gebracht. Dieser ist mit einem ca. 50 cm langen Steigrohr versehen, dessen unteres Ende so abgebogen ist, daß die Oeffnung des Rohres den Kolbenhals berührt (Kondenswasser kann nicht direkt auf den Grund des Kolbens fallen). Ueber kleiner Flamme wird so lange verkohlt, bis sich keine weißen Dämpfe mehr zeigen. (Das Coffein sublimiert nach ca. 10—15 Minuten in langen Nadeln an der Kolbenwand, wird aber wieder vom herabfließenden Kondenswasser gelöst.)

Nach vollständigem Erkalten des Kolbens wird dieser und zugleich auch das Steigrohr mit ca. 30 cm³ heißem Wasser ausgespült. Man filtriert durch einen kleinen Filter in einen Meßkolben von 100 cm³, spült den Kolben 3 mal mit 10 cm³ heißem Wasser nach und filtriert auch die Spülflüssigkeit durch denselben Filter. Nach Abkühlung auf 15° C. wird mit Wasser auf 100 cm³ ergänzt.

Die so erhaltene, durch mitgelöste empyreumatische Stoffe leicht gelblich gefärbte Lösung diene direkt zur Ausfällung des

⁵⁸ H. A. Oehrli, Diss. E.T.H. 1923.

Coffeins. Die Verdünnungsreihe einer wie oben hergestellten Lösung ergab: Reaktion bis 1:8.

Die Interpolation und der nach Formel IV berechnete Prozentgehalt: Je 3 Bestimmungen:

2 cm ³ Lösung	: 1(xxx)	1(xx)	1(x), entspr.	2,28 %	Coffein
1,8 „	„	: 1(xx)	2(x)	„	2,53 % „
1,6 „	„	: 3(o)		„	2,85 % „

Grenzreaktion demnach bei 2,53 % Coffein.

Die Bestimmung nach Ph.H.V gravimetrisch ergab 2,56 % Coffein.

Folgerung: Die mitgelösten Stoffe hindern in keiner Weise die Bestimmung. Die Grenze ist sehr scharf.

2. Semen Colae

Die nach der gleichen Methode vorgenommene Verkohlung wird durch Zusammenballung der feingepulverten Droge etwas erschwert. Mit einem feinen Glasstabe, der später mit der Spülflüssigkeit abgewaschen wurde, zerkleinerten wir daher von Zeit zu Zeit die Drogenanhäufung. Mit Vorteil werden nur 0,500 g Droge (V) eingewogen. Die Ansammlung von Kondenswasser war sehr stark und löste nach kurzer Zeit das Sublimat.

Die Lösung war etwas stärker gefärbt als bei Fol. Theae. 3 Bestimmungen mit verschiedenen Drogenmaterialien ergaben bei allen Verdünnungsreihen Reaktion bis 1:2.

Das Ergebnis der Interpolation (jeweils auf 2 cm³ ergänzt):

Droge A.	1,6 cm ³ :	Trübung, wenige Flocken, entspr.	1,42 %
	1,4 „	: „	„ 1,63 %
	1,3 „	: klare Lösung,	„ 1,75 %

Durch Grenzreaktion gefunden: 1,63 %.

Droge B.	1,4 cm ³ :	Trübung,	„ 1,63 %
	1,3 „	: schwache Trübung,	„ 1,75 %
	1,2 „	: nicht ganz klar,	„ 1,90 %

Durch Grenzreaktion gefunden: unklar 1,75—1,90 %.

Droge C. 1,2 cm ³ : deutliche Trübung,	entsprech. 1,90 %
1,0 „ : leichte Trübung,	„ 2,28 %
0,9 „ : klare Lösungen	„ 2,53 %

Durch Grenzreaktion gefunden: 2,28 %.

Die gravimetrische Bestimmung nach Ph.H.V ergab:

Droge A: 1,80 %; Droge B: 1,85 %; Droge C: 2,30 % Coffein.

Folgerung: Die Werte sind nicht gut, weil durch die mitgelösten empyreumatischen Stoffe eine Kristallisation des Coffein-Wismutjodids und damit auch eine genaue Ablesung verhindert wird.

Kontrollversuche:

1. Zu 10,0 g Droge wurden 0,12 g Coffein zugemischt und hernach der Gesamtcoffeingehalt bestimmt:

Die in der Droge bestimmte Coffeinmenge = 1,9 %

zugefügte Coffeinmenge (wasserfrei) = 1,14 %

berechnete Menge = 3,04 %

Durch Grenzreaktion gefunden:

Verdünnungsreihe bis 1:4, Interpolation bis 1,5 cm³.

$$P = \frac{2 \cdot 4 \cdot 28,5}{0,5 \cdot 1,5 \cdot 100} \% = 3,04 \%$$

2. Der Rückstand der gravimetrischen Bestimmung von Droge C wurde in heißem Wasser gelöst, filtriert und auf 100 cm³ ergänzt.

Grenzreaktion: Verdünnungsreihe bis 1:16. Interpolation mit je 3 Versuchen:

1,2. cm³ : 2(xx) 1(x) entspr. 1,9 %,

1,1 „ : 2(xx) 1(o) „ 2,07 %,

1,0 „ : 3(o) „ 2,28 %.

Es wurden 2,07 % = 90 % des gravimetrischen Wertes gefunden.

3. Extractum Colae siccum

Es wurde ein Chloroformauszug hergestellt nach der Vorschrift der Ph.H.V. Diese lautet gekürzt:

1 g Kolatrockenextrakt wird mit 3 g Weingeist und 3 g Wasser gelöst und mit 57 g Chloroform durchgeschüttelt. Nach Zusatz von 2 cm³ Ammoniak wird während einer Viertelstunde ausgeschüttelt. Von 48 g der durch Watte filtrierten Lösung wird das Chloroform abdestilliert. Der Rückstand wird bei 95° getrocknet.

Der Rückstand betrug 0,0825 g = 10,3 % Coffein.

Wir lösten nun den Rückstand in 30 cm³ kochendem Wasser und filtrierten durch einen kleinen Filter in einen Meßkolben von 100 cm³. Das Filtrat wurde nach dem Spülen von Gefäß und Filter mit drei mal 10 cm³ heißem Wasser und nach Abkühlen auf 15° auf 100 cm³ ergänzt.

Grenzreaktion: Interpolation einer Lösung 1:25. Je 3 Versuche:

2,0 cm ³	:	1(xxx)	1(xx)	1(x)	entspr.	71,25 mg,
1,8 „	:	1(xx)	1(x)	1(o)	„	79,16 „
1,6 „	:	3(o)			„	89,06 „

Es wurden 79,16 mg gefunden.

Der daraus berechnete Coffeinanteil im Extrakt = 9,9 %.

4. Extractum Colae fluidum

Eine direkte Bestimmung des Coffeins in dem mit Wasser verdünnten und filtrierten Fluidextrakt zeigte einerseits wie beim Trockenextrakt durch Ballast- und Nebenstoffe, andererseits auch durch den Alkoholgehalt starke Verzögerung. (Nach unsern Versuchen behindert schon ein Alkoholgehalt von 10 % den Nachweis des Coffeins.)

Wir verfahren wiederum nach der Methode der Ph.H.V, welche gekürzt lautet:

6 g Kolafluidextrakt werden mit 60 g Chloroform und 3 cm³ verd. Ammoniak ausgeschüttelt. Hierauf wird der wäßrige Anteil an Tragant gebunden und von 50 g durch Watte filtrierter Lösung das Lösungsmittel abdestilliert, und der Rückstand bei 95° getrocknet.

3 Proben isolierten folgende Coffeinmengen:

0,0535 g, 0,0547 g, 0,0530 g : Mittelwert = 0,0537 g = 1,074 %.

Grenzreaktion des gelösten Rückstandes:

Verdünnungsreihe bis 1:16. Interpolation mit je 3 Versuchen:

2,0 cm³ : 3(xx) entspr. 0,0456 g,
 1,8 „ : 2(x) 1(o) „ 0,0506 g,
 1,7 „ : 3(o) „ 0,0536 g.

Es wurden 0,0506 g = 1,01 % gefunden.

Uebersicht

Extrakt:	gravimetrische Bestim. Coffein %:	Grenzreakt. Coffein %:	Differenz in %:
Colae sicc.	10,3	9,9	4
„ fluid.	1,074	1,01	6,4

Tabelle 7

In Einberechnung der Streuung der Grenzreaktionsmethode sind die damit gefundenen Werte ca. 5 % unter den Werten der gravimetrischen Bestimmung, die nach Tobler⁵⁵ 10 % zu wenig Coffein isoliert, dafür 10 % Ballaststoffe mitwägen läßt.

Reaktion 2: mit Kaliumantimonjodid

a) Stabilität

Die Beobachtungen gelten für 1 cm³ Wasser und 10 Tr. Reagens in je 5 Versuchen:

3 Tr. Hcl 25 % : sofort Hydrolyse,
 4 „ „ 25 % : 2 × Hydrolyse,
 5 „ „ 25 % : 1 × leichte Trübung,
 6 „ „ 25 % : nach 2 Tagen noch klar.

b) Empfindlichkeit

Versuch an Coffeinelösung (wasserfreies Coffein) 1:20 000.
 Zusatz: 12 Tr. HCl 25 % für 2 cm³.

10 Tr. Reagens	:	Grenze bei 0,9 cm ³ , entsprechend 22,5 γ.
14 „ „	:	„ „ 0,75 „ „ 17,5 γ.
20 „ „	:	„ „ 0,65 „ „ 16,25 γ.

c) Genauigkeit

Versuch an Coffeinelösung (wasserfreies Coffein) 1:20 000.
Zusatz: 12 Tr. HCl 25 % und 20 Tr. Reagens für 2 cm³, je 3 Versuche:

0,70 cm ³	:	1(xxx) 2(xx),	entsprechend 17,5 γ.
0,65 „	:	1(xx) 2(x)	„ 16,25 γ.
0,60 „	:	1(xx) 2(o),	„ 15,0 γ.
Grenzreaktion bei 16,25 γ.			

Praktische Anwendung:

Die Streuung ist ungefähr gleich groß wie bei Natriumwis-
mutjodid.

a) Versuch an reiner Coffeinelösung

Eingewogene Menge Coffein (nicht wasserfrei)	=	134 mg,
Grenzwert für wasserhaltiges Coffein	=	16,5 γ.
Reaktion in der Verdünnungsreihe bis 1:64.		

Interpolation dieser Lösung:

1,6 cm ³	:	starke Reaktion, entspr.	132 mg,
1,5 „	:	schwache Reaktion, „	140,5 mg.
Fehler maximal 4,9 %			

b) Einfluß von Beimischungen

1. Zucker: 250 mal mehr : kein Einfluß.
2. Stärke: 100 mal mehr : äußerster Zusatz.
3. Milchzucker: 300 mal mehr : noch gute Reaktion.
4. Zitronensäure: 300 mal mehr : noch gute Reaktion.
5. Natriumbenzoat: Bestimmung des Coffeins aus Coffein-Na.
benzoicum ergab 50 % statt 47,5 %.
6. Antipyrin:

10 cm³ der Lösung, die Antipyrin neben Coffein enthält, wird mit NaCl gesättigt. Mit 2 Tr. Trichloressigsäure pro cm³ Lösung wird das Antipyrin ausgefällt und dann mit Hilfe von wenig Talk filtriert. Das Filter wird mit gesättigter NaCl-Lösung, der pro cm³ 2 Tr. Trichloressigsäure beigegeben wurde, in kleinen Anteilen ausgewaschen. Das Filtrat wird hierauf (nicht durch das Filter) mit NaCl-Lösung auf 20 cm³ ergänzt.

Die Ausfällung des Coffeins kann nun im Filtrat vorgenommen werden, da Kaliumantimonjodid in NaCl-gesättigter Lösung stabil bleibt.

Trichloressigsäure hat auf die Fällung von Coffein mit Kaliumantimonjodid in diesem Falle keinen Einfluß. Groß ist die Abhängigkeit von der Temperatur.

Beispiel:

In 100 cm³ Wasser wurden eingewogen:

Coffein : 10,7 mg (Antipyrin: 40 mg).

Reaktion in der Verdünnungsreihe bis 1:2, bei der Interpol. bis 1,4 cm³. Die Berechnung nach Formel (III), mit dem Grenzwert = 20γ, und dem Resultat mal 2 multipliziert (Zusatz der NaCl-Lösung!), ergibt:

$$S = \frac{2 \cdot G \cdot b}{a \cdot 1000} \text{ mg} = \frac{4 \cdot 20 \cdot 100}{1,4 \cdot 1000} \text{ mg} = 5,7 \text{ mg} \cdot 2 = 11,4 \text{ mg}.$$

Die Methode versagte vollständig bei Zusatz von Zitronensäure oder bei der Analysierung von Antipyrino-Coffeinum citricum.

e) Bestimmung von Coffein aus Drogen

Die Bestimmungen wurden parallel zu denen mit Natriumwismutjodid durchgeführt. Es wurden daher die gleichen Lösungen angewandt.

1. Folium Theae

Gravimetrische Analyse: 2,56 % Coffein.

Die Resultate der Grenzreaktion, je 3 Proben:

2,0 cm ³	:	2(xx)	1(x)	entsprechend	2,4 %,
1,9 „	:	1(xx)	2(x)	„	2,5 %,
1,8 „	:	1(xx)	2(o)	„	2,6 %.

Es wurden also 2,5 % gefunden.

2. Semen Colae

Die Fällungen sind im Gegensatz zu denjenigen mit Natriumwismutjodid kristallin. Hingegen kann eine deutliche Verzögerung der Ausfällungen bemerkt werden.

Die Resultate für die Droge. A: gravimetrische Best.: 1,80 %,
durch Grenzreaktion: 1,77 %.

3. Extractum Colae siccum

Aus der Auflösung von 82,5 mg Trockenrückstand der Bestimmung nach der Ph.H.V wurden durch Grenzreaktion 80 mg Coffein nachgewiesen.

4. Extractum Colae fluidum

Die Auflösung von 53,0 mg Trockenrückstand aus der Bestimmung nach der Ph.H.V ergab durch Grenzreaktion einen Anteil von 50,5 mg = 94 %.

Uebersicht

Bestimmung von	Grav. Methode Coffein %:	Grenz- reaktion Coffein %:	Differenz in %:
Semen Colae	1,8	1,77	ca. 1,7
Extract. Colae sicc.	10,3	10,0	3
„ „ fluid.	1,074	1,01	6,4

Tabelle 8

Reaktion 3: mit 0,1 n-Jodlösung

a) Stabilität

1 cm³ der zu untersuchenden Lösung, die mit 1—3 Tr. Jodlösung versetzt ist, zeigt bis zu einem Zusatz von 4 Tr. H₂SO₄ konz. keine Nebenerscheinungen.

b) Empfindlichkeit

Untersuchung an einer Lösung von wasserfreiem Coffein 1:25 000.

Zusatz: 6 Tr. Reagens pro 2 cm³ nach folgenden Säuremengen:

H ₂ SO ₄ konz.:	festgestellte Grenze:
4 Tr. 2 cm ³	40 γ
6 Tr. 2 cm ³	30 γ

c) Genauigkeit

Untersuchung an obiger Lösung.

Zusatz: 6 Tr. Reagens und 6 Tr. H₂SO₄ pro 2 cm³.

Ergebnisse der Interpolation:

1,6 cm ³ :	gut sichtbare Trübung, entspr.	32 γ.
1,5 „ :	schwache Trübung, „	30 γ
1,4 „ :	undeutlich, „	28 γ

Nach Zusatz der Säure wurden die Lösungen auf 20° abgekühlt. Selbst bei Beobachtung über heller Unterlage war kein scharfer Uebergang von trüber zu klarer Lösung wahrzunehmen.

Praktische Anwendung

a) Einfluß von Beimischungen

1. Zucker: 250 mal mehr : zeigt keinen Einfluß.
2. Stärke: Bestimmung nicht möglich.
3. Natriumbenzoat: Die Bestimmung des Coffeins in Coffeino-Natrium benzoicum ergab einen Fehler von 7 %.

b) Bestimmung von Coffein aus Drogen

1. Semen Colae: Der Wert lag mit 1,87 % (gravimetrisch 1,80 %) deutlich zu hoch.
2. Extractum Colae fluidum: Die Grenze war ungenau und lag ebenfalls zu hoch.

Zusammenfassung:

0,1 n-Jodlösung ist für eine genaue Erfassung von Coffein wenig geeignet.

Theobromin

Reaktion 1: mit Natrium-Wismutjodid

a) Stabilität

Wie bei Coffein.

b) Empfindlichkeit

Theobrominlösungen, die mit 3 Tr. H_2SO_4 konz. und einem Tr. Reagens versehen sind, zeigen mitunter statt der zu erwartenden roten Fällung eine orangefarbene Trübung zugleich mit starkem Beschlag des Glases. Durch Verminderung des Säurezusatzes auf 2 Tr. H_2SO_4 gehen die Fälle mit störenden Ausscheidungen zurück, die nicht mit der hydrolytischen Spaltung des Reagens zu verwechseln sind. Der Nachteil der um wenig zurückgegangenen Empfindlichkeit wird durch die bessere Beobachtungsmöglichkeit aufgehoben.

c) Genauigkeit

Die Abstufung unter den noch Reaktion zeigenden Verdünnungen ist nicht stark ausgeprägt. Die Grenze variiert zwischen 150 und 160 γ .

Praktische Anwendung

a) Einfluß von Beimischungen

Entsprechend der 5 mal kleineren Empfindlichkeit im Vergleich zu Coffein ist der zulässige Ueberschuß an Beimischungen geringer.

b) Bestimmung aus Tabletten

Beispiel: Compressi Theobromini cum Phenobarbitalo, mit 0,3 g Theobromin pro Tablette.

Durchschnittsgewicht der Tablette = 0,45 g.

Unter Berücksichtigung der geringen Löslichkeit von Theobromin wurde 0,05 g Tablettenmasse in einem Meßkolben von 100 cm³ mit 80 cm³ Wasser gekocht, nach Abkühlen auf 100 cm³ ergänzt und filtriert.

Nach Interpolation wurden mit dem Grenzwert 150 γ (160 γ) 0,270 g (0,288 g) Theobromin für eine Tablette von 0,45 g gefunden, Fehler = 10 % (3,7 %).

Reaktion 2: mit Kalium-Antimonjodid

a) *Stabilität*

und

b) *Empfindlichkeit*

Wie bei Coffein bestimmt.

c) *Genauigkeit*

Untersuchte Theobrominlösung = 1:40 000 (1 cm³ enthält 25 γ).

Zusatz: 12 Tr. HCl 25 % und 20 Tr. Reagens pro 2 cm³.

Ergebnis von je 3 Proben bei der Interpolation:

1,8 cm³ : 2(xx) 1(x), entsprechend 22,5 γ

1,7 „ : 1(x) 2(o), „ 21,25 γ

Grenze bei 22,5 γ

Diese Werte gelten nur für eine Temperatur von genau 20°.

Praktische Anwendung

a) Einfluß von Beimischungen

Neben den bei Coffein angeführten Beimischungen, deren Konzentration auch für Theobromin gelten, wurde noch auf Natriumazetat geprüft, das schon bei 25-fachem Ueberschuß Verzögerung verursacht.

b) Bestimmung aus Compressi Theobromini cum Phenobarbitalo à 0,3 g Theobromin

Gefundener Theobrominanteil in 0,45 g Tablettenmasse = 0,310 g, Fehler = 3,3 %.

Reaktion 3: mit 0,1 n-Jodlösung

a) Stabilität

Wie bei Coffein.

b) Empfindlichkeit

Wie bei Reaktion 1 stellt sich eine Trübung ein, die durch Herabsetzung des Säurezusatzes vermieden werden kann. Die dunkle, fast schwarze Ausflockung ist bis zu einer Verdünnung von 1:8000, entsprechend 125 γ Theobromin, zu beobachten. Starkes Durchschütteln der Lösungen ist dabei Voraussetzung.

c) Genauigkeit

Wie oben angeführt, sind genauere Resultate in großem Maße vom Durchschütteln der Lösungen abhängig. Die Genauigkeit liegt aber auch damit hinter derjenigen von Reaktion 1 und 2 zurück.

Reaktion 4: 0,1 n-AgNO₃ in heißer ammoniakalischer Lösung

a) Stabilität

3 Tr. 0,1 n-AgNO₃ in 1 cm³ Wasser + 1 Tr. NH₃ 10 % geben auch bei längerem Kochen keine Trübung. Bei 10 Tr. 0,1 n-AgNO₃ scheidet sich schon nach kürzerem Erwärmen im Wasserbade Silberoxyd aus.

b) Empfindlichkeit

Bei gleichbleibendem Reagenszusatz (3 Tr. 0,1 n-AgNO₃ + 1 Tr. NH₃ 10 %) variierten die Resultate je nach Erwärmungszeit, Temperatur des Wasserbades und Art der Kühlung.

Untersuchung auf den Einfluß der Temperatur des Wasserbades: Versuche an Theobrominlösung 1:4000. Je 1 cm³ davon wurden nach obigem Reagenszusatz 5 Min. lang erwärmt und in Wasser von 20° gekühlt.

Temperatur des Wasserbades 95°: keine Reaktion.

Temperatur des Wasserbades 98°: starke Reaktion.

c) Genauigkeit

Bei gleicher Anordnung wie oben (Wasserbad = 98°) zeigte die Interpolation von 2 cm³ 1:4000 Lösung bei je 5 Versuchen:

2 cm³ : 4(xx) 1(x), entsprechend 250γ Theobromin,

1,8 „ : 2(x)* 3(o), „ 225γ Theobromin.

Grenzreaktion bei 250γ

* nur wenige Flöckchen.

Praktische Anwendung

a) Einfluß von Beimischungen

1. Zucker: Reaktion geht nicht.
2. Stärke: 20 mal mehr verzögert leicht.
3. Antipyrin: 2 mal mehr hindert nicht.

Theophyllin

Reaktion 1: mit Natrium-Wismutjodid

a) Stabilität

Wie bei Coffein.

b) Empfindlichkeit

Trotzdem wie bei Theobromin Trübungserscheinungen auftraten, wurde der Säurezusatz nicht verändert, da damit die Reaktionsgrenze deutlicher zu erkennen war.

c) Genauigkeit

Wie bei Coffein. Grenze bei 400γ

Praktische Anwendung

a) Einfluß von Beimischungen

Der zulässige Ueberschuß an Beimischungen ist ca. 10 mal geringer als bei Coffein.

b) Ermittlung des Theophyllingehaltes in Theophyllinum cum Aethylendiamino

Euphyllin weist einen Grenzwert von 425γ auf, dieser ist demnach kleiner, als dem Theophyllinanteil entsprechen würde.

Euphyllin wird also fast mit der gleichen Grenze gefällt wie Theophyllin.

c) Ermittlung des Theophyllingehaltes in
Theophyllino-Natrium aceticum

Theoretischer Wert = 65 %. Durch Grenzreaktion wurden
61,5 % gefunden. Fehler = 5,4 %.

Reaktion 2: mit Kalium-Antimonjodid

a) Stabilität	}	wie bei Coffein. Grenze bei 100 γ
b) Empfindlichkeit		
c) Genauigkeit		

Praktische Anwendung

a) Einfluß von Beimischungen

Siehe bei Coffein.

b) Ermittlung des Theophyllingehaltes in
Theophyllum cum Aethylendiamino

Theoretischer Wert = 78 %, durch Grenzreaktion gefunden
= 76,9 %. Fehler ca. 1,5 %.

c) Ermittlung des Theophyllingehaltes in
Theophyllino-Natrium aceticum

1. Einfluß von Natriumazetat: 5 mal mehr verzögert die Fällung.
2. Bestimmung des Theophyllingehaltes:
Theoretischer Wert = 65 %. Durch Grenzreaktion gefunden
= 66,5 %. Fehler = ca. 2,3 %.

Reaktion 3: mit 0,1 n-Jodlösung

a) Stabilität	}	wie bei Coffein. Grenze bei 200 γ
b) Empfindlichkeit		
c) Genauigkeit		

Praktische Anwendung

a) Theophyllingehalt in Theophyllum cum Aethylendiamino

Theoretischer Wert = 78 %, durch Grenzreaktion gefunden
= 80 %, Fehler = ca. 2,5 %.

b) Theophyllingehalt in Theophyllino-Natrium aceticum

Theoretischer Wert = 65 %, durch Grenzreaktion gefunden
= 66,5 %, Fehler = ca. 2,3 %.

Reaktion 4a: 0,1 n-AgNO₃ in kalter ammoniakalischer Lösung

a) Stabilität

Keine Nebenerscheinungen.

b) Empfindlichkeit

Untersuchung an der Verdünnungsreihe von Theophyllin-
lösung 1:1000.

Zusatz: 3 Tr. 0,1 n-AgNO₃ und wechselnde Mengen Am-
moniak:

1. Ohne NH₃: Fällung gelatinös bis Rö 4.
 2. 1 Tr. NH₃ 25 %: Fällung kristallin bis Rö 4.
 3. 1 Tr. NH₃ 10 %: Fällung kristallin bis Rö 7.
- Rö 4 entspr. 125 γ , Rö 7 31 γ Theophyllin.

c) Genauigkeit

Untersuchung an Theophyllinlösung 1:50 000 (20 γ pro cm³).

Zusatz: 3 Tr. 0,1 n-AgNO₃ und 1 Tr. NH₃ 10 % pro cm³.

Resultat von je 3 Versuchen:

1,5 cm³ : 2(xx) 1(x), entsprechend 15 γ Theophyllin,

1,4 „ : 1(x) 2(o), „ 14 γ „

1,3 „ : 3(o), „ 13 γ „

Grenzreaktion bei 15 γ

Praktische Anwendung

a) Einfluß von Beimischungen

Keine Verzögerung wurde wahrgenommen mit:

1. Zucker: 25 mal mehr,
2. Stärke: 25 mal mehr,
3. Antipyrin: 2,5 mal mehr,
4. Natriumsalizylat: 25 mal mehr,
5. Natriumazetat: 25 mal mehr.

Verzögerung mit:

1. Antipyrin: 25 mal mehr,
2. Phenobarnital-Natrium: 25 mal mehr,
3. Di-pyrin: 2,5 mal mehr.

b) Theophyllinbestimmung in Theophyllinum cum Aethylendiamino

Theoretischer Wert = 78 %, durch Grenzreaktion gefunden = 79 %, Fehler = ca. 1,3 %.

Reaktion 5: mit Merkuriazetat

a) Empfindlichkeit

Ermittlung der optimalen Konzentration des Fällungsmittels
(je 1 Tr. Reagens pro cm^3):

- | | | | |
|------------------|--------|------------|--------------|
| 1. Merkuriazetat | 10 % | Grenze bei | 800 γ |
| 2. „ | 2,5 %: | „ „ | 500 γ |
| 3. „ | 1 %: | „ „ | 235 γ |

b) Genauigkeit

Untersuchte Lösung = Theophyllinlösung 1:2000.

Zusatz: 1 Tr. Reagens pro cm^3 . Resultat von je 3 Versuchen:

- | | | | | | |
|---------------------|----------|-------|-------|------------|--------------|
| 1,0/2 cm^3 | : 1(xxx) | 1(xx) | 1(o), | entsprech. | 250 γ |
| 0,95/2 „ | : 1(xxx) | 1(x) | 1(o), | „ | 235 γ |
| 0,90/2 „ | : 1(x) | 2(o), | „ | „ | 225 γ |

Grenzreaktion bei 235 γ

Die Resultate zeigen nicht die Ausgeglichenheit innerhalb einer Konzentrationsstufe, wie sie andere Reaktionen aufweisen. Die Feststellung der Grenzreaktion wird daher erschwert.

Praktische Anwendung

a) Einfluß von Beimischungen

1. Coffein: 2 mal mehr verzögert schon.
2. Zucker: 5 mal mehr = größtmöglicher Ueberschuß.

b) Theophyllinbestimmung in Theophyllinum cum Aethylendiamino

Da Euphyllin selbst bis zu einer Grenze von 250 γ gefällt wird, ist eine Bestimmung unmöglich.

Antipyrin

Von den Reaktionen des Antipyrins wurden nur diejenigen eingehender untersucht, die eine genaue Ablesung zuließen.

Reaktion 6: mit Kaliumferrocyanid

a) Empfindlichkeit

Die Ermittlung des optimalen Säure- und Reagenszusatzes:

Untersuchung an Antipyrinlösung 1:4000 NaCl-gesättigt.

Zusatz: 2n-H₂SO₄ und gesättigte K₄Fe(CN)₆-Lösung.

Zu je 1 cm³ obiger Lösung wurden zugesetzt:

Säure:	Reagens	Reaktion:
1 Tr.	1 Tr.	schwach
2 „	1 „	schwach
1 „	2 „	gut
1 „	5 „	keine
3 „	5 „	ganz schwach

b) Genauigkeit

Untersuchte Lösung wie unter a).

Zusatz: pro cm³ 1 Tr. Säure und 2 Tr. Reagens. Je 3 Versuche:

1,6 / 2 cm³ : 2(xx) 1(x), entsprechend 200 γ
 1,4 / 2 cm³ : 3(o), „ 175 γ

Praktische Anwendung

Um beliebige Verdünnungen kochsalzgesättigter Lösungen herstellen zu können, bedienen wir uns folgender Formel, die angibt, wieviel cm^3 gesättigte NaCl-Lösung (c) zusätzlich zu a cm^3 der unverdünnten, auch erst nachträglich mit NaCl gesättigten Lösung benötigt werden, um genau b cm^3 der gewünschten Verdünnung zu erhalten:

$$c = b - a - (a \cdot 0,13) \quad (\text{V})$$

Beispiel: Die Verdünnungsreihe gab bis 1:4 an. Aus der wäßrigen Anfangslösung soll nun für die Interpolation 20 cm^3 einer NaCl-gesättigten, 1:4 verdünnten Lösung hergestellt werden.

$$a = 5 \text{ cm}^3, b = 20 \text{ cm}^3, \text{ gesucht} = c.$$

$$c = 20 - 5 - 0,65 \text{ cm}^3 = 14,35 \text{ cm}^3.$$

a) Antipyrinbestimmung in Antipyrino-Coffeinum citricum

Theoretischer Wert = 94 %, durch Grenzreaktion gefunden = 90 %, Fehler = ca. 4,25 %.

Reaktion 7: mit Merkurinitrat in heißer Lösung

a) Stabilität

Der die Reaktion beschleunigende Gehalt an Nitrit nimmt beim Lagern ab. Es wurde daher mit dem Reagens jeweils eine Natriumnitritlösung 1 % zugesetzt.

b) Empfindlichkeit

Die Empfindlichkeit der Reaktion differiert je nach

1. Reagenskonzentration,
2. Natriumnitritzusatz,
3. Kochzeit.

Zu 1. Das 1+1 verdünnte Reagens ist bedeutend empfindlicher.

Zu 2. Ein stärkerer Zusatz als 1 Tr. der 1%igen Lösung hemmt die Reaktion.

Zu 3. Die Ermittlung der optimalen Erwärmungszeit im sprudelnden Wasserbade ergab:

Je 5 Versuche mit 1 cm^3 Antipyrinlösung 1:10 000.

Erwärmungszeit:	Reaktion:
5 Minuten	5 mal (o)
3 „	5 „ (xx)

c) Genauigkeit

Der Unterschied zwischen positiv und negativ ausfallender Reaktion ist sehr gut, entweder zeigt sich stark ausgeprägte Trübung oder dann ganz klare Lösung.

Praktische Anwendung

Ermittlung des Antipyrinanteils in Antipyrino-Coffeinum citricum

Die zu untersuchende Ausgangslösung: 0,1 g in 100 cm³.

Verdünnungsreihe: schön abgestufte Reaktion bis 1:8.

Interpolation der Lösung 1:8000, je drei Versuche:

1,6 cm³ : 2(xx) 1(x), entsprechend 90 mg,

1,5 „ : 3(o), „ 96 mg.

Durch Grenzreaktion gefunden: 90 mg.

Theoretischer Wert: 90 mg.

Reaktion 8: Merkurinitrat und Trichloressigsäure

a) Stabilität

Merkurinitratlösung und Trichloressigsäure müssen getrennt zugesetzt werden.

b) Empfindlichkeit

1 Tr. Merkurinitrat und 1 Tr. Trichloressigsäure 80 % pro cm³ geben die besten Resultate, verdünntere Reagenslösungen reagieren weniger stark.

c) Genauigkeit

Die einzelnen Gläschen müssen zusammen mit einer Vergleichslösung ohne Antipyrin geschüttelt werden, denn nur so kann eine deutliche Grenze beobachtet werden.

Versuche an Antipyrinlösung 1:4000 bei Beobachtung über schwarzer Unterlage; Ergebnisse der Interpolation:

1,6 cm³ : wenige Flocken, entsprechend 200γ

1,4 „ : nur Gelbfärbung, „ 175γ

Grenzreaktion bei 200 γ.

Reaktion 9: Merkurichlorid und Ferrichlorid

a) Empfindlichkeit

Mit einem Tr. einer rel. verdünnten Eisenchloridlösung (5%) ist der Zusatz von 5 Tr. HgCl_2 R. Ph.H.V notwendig, um die stärkste Ausfällung zu erhalten. Der kleinste Säurezusatz löst den Niederschlag unter Entfärbung wieder. Die Fällung tritt durch Schütteln innerhalb einer Minute ein.

b) Genauigkeit

Versuche an einer Antipyrinlösung 1:1000.

Zusatz: 1 Tr. Ferrichlorid 5 %, 5 Tr. HgCl_2 .

0,8 cm³ / 1 cm³ : starke Reaktion, entsprechend 800 γ

0,75 „ / 1 „ : keine Reaktion, „ 750 γ

Grenzreaktion bei 800 γ

Dimethylaminoantipyrin

Es wurde nur diejenige Reaktion eingehender untersucht, die spezifisch ist und genaue Ablesungen zuläßt.

Reaktion 10: mit Kalium-Kupfercyanid

a) Stabilität

Prüfung der Haltbarkeit der frisch bereiteten Lösung von 5 cm³ Kaliumkupfercyanid 10 % + 2,5 cm³ 2n-Essigsäure; Zusatz 1 Tr/cm³:

Grenze 10 Stunden nach Herstellung = 80 γ

„ 24 „ „ „ = 70 γ

Prüfung auf den Einfluß der Temperatur:

Grenzreaktion bei 20° = 80 γ

„ „ 18° = 75 γ

„ „ 25° = 90 γ

b) Empfindlichkeit

Mit der Wahl des Säurezusatzes konnten wir die Empfindlichkeit der Reaktion beliebig ansetzen, wobei allerdings noch der Umstand zu berücksichtigen war, daß sehr saure Lösungen sich rasch zersetzen.

Zu je 5 cm³ Kalium-Kupfercyanid 10 % wurden zugesetzt:

2n-Essigsäure:	Reaktionsgrenze:
1 cm ³	über 1 mg
2 „	125 γ
2,5 „	80 γ
4	30 γ

Die Reaktionsfähigkeit des Reagens wird auch von der Herstellungsart beeinflusst. Bei portionenweiser Zugabe der Säure resultiert ein klares Reagens, das die obigen Werte gibt, beim einmaligen Zuschütten der ganzen Säuremenge trübt sich die Reagenslösung und die Werte liegen bedeutend höher.

c) Genauigkeit

Untersuchung an Di-pyrin-Lösung 1:10 000.

Zusatz: 1 Tr. Reagens. Interpolation mit je drei Versuchen:

0,80 cm ³ / 1 cm ³ : 3(x),	entsprechend 80 γ
0,75 „ / 1 „ : 1(x) 2(o),	„ 75 γ
Grenzreaktion bei 80 γ	

Praktische Anwendung

a) Einfluß von Beimischungen

1. Zucker, 25 mal mehr: keine Verzögerung.
2. Natriumazetat, 5 mal mehr: Verzögerung.
3. Natriumsalicylat, 25 mal mehr: keine Verzögerung.
4. Antipyrin: 10-facher Ueberschuß bewirkt Steigerung der Empfindlichkeit. Wird selbst bis zu einer Verdünnung von 1:100 gefällt.
5. Allylisopropylbarbitursäure, 3 mal mehr: kein Einfluß.

b) Bestimmung von Di-pyrin in Allonal

1. Mischung von 62,5 % Di-pyrin und 37,5 % Allylisopropylbarbitursäure.

Durch Grenzreaktion gefunden 61,5 %.

2. Tabletten zu 0,16 g Allonal.

Eine Tablette zu 0,240 g (Durchschnittsgewicht = 0,25 g) wurde in 75 cm³ kochendem Wasser gelöst. Die Lösung wurde filtriert und auf 100 cm³ ergänzt.

Berechneter Wert = 96 mg.

Durch Grenzreaktion gefundener Wert = 94 mg.

Phenazetin und Laktophenin

0,1 g Phenazetin oder Laktophenin wurde mit 10 cm³ n-HCl während 5 Minuten durch lebhaftes Kochen verseift und sofort darauf mit ca. 80 cm³ Wasser versetzt. Nach dem Erkalten wurde auf 100 cm³ ergänzt. Diese Lösung diente für die Reaktionen 11 und 12.

Reaktion 11: mit Chromsäure 10 %

a) Empfindlichkeit

Feststellung der geeigneten Konzentration des Reagens. Innerhalb von einer Minute nach Eintropfen des Reagens entwickelt sich eine intensive Rotviolett-Färbung, die nach 5 Minuten verblaßt und je nach der Reagenskonzentration eine im schräg einfallenden Lichte zu beobachtende Opaleszens zeigt.

1. Chromsäure 3 %, 1 Tr.: Reaktion bis 700 γ , Opaleszens verschwindet nach 10–15 Minuten.
2. Chromsäure 10 %, 1 Tr.: Reaktion bis 600 γ , Opaleszens auch nach 15 Minuten noch ablesbar.
3. Chromsäure 10 %, 2 Tr.: Färbung verschwindet rasch, nur noch schwache Opaleszens.

Obenstehende Werte wurden mit je 1 cm³ total verseifter Phenazetinlösung erhalten. Für Laktophenin sind die Reaktionen weniger empfindlich, 1 Tr. Chromsäure 10 % erfaßt noch 1 mg.

b) Genauigkeit

Untersuchung einer verseiften Phenazetinlösung 1:1000. Die Ergänzungen wurden mit 0,1 n-HCl vorgenommen. Ablesung bei Beobachtung mehrerer Verdünnungsstufen nebeneinander.

Zusatz: 2 Tr. Chromsäure 10 % pro 2 cm³.

1,2 cm³ : deutliche Opaleszens, entsprechend 600 γ

1,1 „ : Opalesz., kaum wahrnehmbar, „ 550 γ

1,0 „ : klare Lösung, „ 500 γ

Grenzreaktion bei 600 γ

Für Laktophenin:

2,0 cm ³	: deutliche Opaleszens,	entsprechend 1 mg,
1,8 „	: klare Lösung,	„ 900γ
Grenzreaktion bei 1 mg.		

Praktische Anwendung

Ermittlung des Phenazetingehaltes in einer Mischung mit Zucker, Antipyrin, Coffein, Allobarbital und Cyclobarbital.

5 cm³ der zu untersuchenden Lösung wurden mit 1 cm³ HCl 25 % versetzt und 5 Minuten lang gekocht. (Der Säuregehalt der Lösung beeinflußt die Empfindlichkeit nicht.) Nach Erkalten wurde auf 5 cm³ ergänzt.

Berechnete Phenazetinmenge = 150 mg.

Durch Grenzreaktion gefundene Menge = ca. 135 mg. Fehler = 9 %.

Reaktion 12: mit Natriumhypochlorid

a) Stabilität

Die als Reagens gebrauchte Solutio Natrii hypochlorosi chirurgicalis sextemplex muß, auf das erforderliche Volumen verdünnt, den Anforderungen der Ph.H.V entsprechen.

b) Empfindlichkeit

Die Reaktion ist bei 20° stärker als bei niedrigeren Temperaturen.

Zur Feststellung des Einflusses der Abstumpfung der Azidität mit 2n-Natriumkarbonat und zur Ermittlung des optimalen Reagenszusatzes wurde nach dem Eintropfen der Zusätze die Reaktion ohne Schütteln der Lösung abgewartet.

Die besten Resultate mit langanhaltender Rotfärbung und starker Trübung ergeben 4 Tr. 2n-Na₂CO₃ und 2 Tr. Reagens pro 2 cm³.

c) Genauigkeit

Für Phenazetin.

Untersuchung einer verseiften Phenazetin-Lösung 1:1000.

Zusatz: 4 Tr. 2n-Na₂CO₃ und 2 Tr. Reagens pro 2 cm³.

Ablesung: nach 3—4 Minuten in schräg einfallendem Lichte.

- 1,0 cm³ / 2 cm³ : starke Färbung, eindeutige Opaleszenz,
 0,9 „ / 2 „ : schwache Färbung, äußerst geringe Opaleszenz.

Grenzreaktion in 1,0/2 cm³, entsprechend 500γ

Untersuchung einer verseiften Laktophenin-Lösung 1:1000.

Zusatz und Ablesung wie bei Phenazetin.

- 1,5 cm³ / 2 cm³ : starke Färbung und Opaleszenz,
 entsprechend 750γ

- 1,4 „ / 2 „ : geringe bis keine Opaleszenz „ 700γ

- 1,3 „ / 2 „ : keine Opaleszenz, „ 650γ

Grenzreaktion bei 750γ

Praktische Anwendung

1. Einfluß von Zucker: 20 mal mehr hemmt nicht..
2. Einfluß von Stärke: 10 mal mehr hat keinen Einfluß,
 20 mal mehr hemmt die Farbreaktion,
 es tritt Trübung ein.

Reaktion 13: mit n-Jodlösung

a) Empfindlichkeit

Die Empfindlichkeit nimmt parallel mit dem Säurezusatz zu.

Optimaler Zusatz: 3 Tr. H₂SO₃ konz. pro cm³ Phenazetin-Lösung. In der abgekühlten Lösung scheiden sich innerhalb von 15 Minuten kleine braune Kriställchen aus.

b) Genauigkeit

Untersuchung einer Phenazetin-Lösung 1:4000.

Zusatz: 6 Tr. H₂SO₄ konz. und 2 Tr. n-Jodlösung pro 2 cm³.

Ergebnis der Interpolation bei je 5 Versuchen:

1,4 cm³ : 1(xx) 4(x), entsprechend 140γ

1,3 „ : 5(o)*, „ 130γ

Grenzreaktion bei 140γ

* höchstens noch vereinzelte Flöckchen.

Praktische Anwendung

Die Reaktion eignet sich nur für isoliertes Phenazetin.

Barbitursäuren

(Siehe Tabelle der Grenzwerte p. 31)

Barbital, Barbital-Natrium, Phenobarbital, Phenobarbital-Natrium, Cyclobarbital und Cyclobarbital-Kalzium geben mit den verschiedenen Reagenzien ähnliche Reaktionsverhältnisse, Allylisopropylbarbital zeigt geringe Abweichungen, Allobarbital hingegen reagiert ganz spezifisch. Die Reaktionen werden daher nur an Hand eines Vertreters der freien Säuren oder der Kalzium, bzw. Natriumsalze besprochen. Die Ergebnisse für Allobarbital werden getrennt angeführt.

Reaktion 14: mit Millon's Reagens

a) Empfindlichkeit

Die Steigerung der Empfindlichkeit durch Verdünnung der Reagenslösung wurde schon an anderer Stelle erwähnt (siehe p. 9). Wir benützten als Reagens eine 1 + 1 verdünnte Lösung.

Beim Zusetzen von 1 Tr. Reagens pro cm^3 Lösung erscheint vorerst nur eine undeutliche Ausfällung, die beim Durchschütteln der Lösung rasch verstärkt wird. Das Ansäuern der Barbitursäurelösung mit Salpetersäure nach Vorschrift des Codex Gallicus schwächt die Reaktion stark.

b) Genauigkeit

Der Uebergang von positiv zu negativ ausfallender Reaktion erfolgt von einer Verdünnungsstufe zur andern nicht spontan. Ein negativer Befund wurde dann angenommen, wenn bei der Beobachtung gegen diffuses Tageslicht keine deutliche Ausflockung mehr zu konstatieren war, obgleich vielleicht noch wenige Flöckchen zu sehen waren.

Beispiel: Untersuchung einer Phenobarbital-Natrium-Lösung 1:20 000.

Zusatz: 2 Tr. Reagens pro 2 cm^2 .

Ergebnis der Interpolation:

1,4 cm^3 , entspr. 35 γ : sehr regelmäßige Flockung,

1,3 „ „ 32,5 γ : nur noch undeutliche Flockung.

Für Allylisopropylbarbital:

Neben der Flockung entsteht noch eine Trübung, die aber nicht berücksichtigt wurde.

Für Allobarbitat:

Die Reaktion erfolgt nicht sofort, sondern es tritt allmählich eine Trübung ein, die innerhalb von 15 Minuten die Grenze bei 10γ erreicht.

Praktische Anwendung

Ermittlung von Phenobarbital-Natrium neben Coffein und Di-pyrim.

Berechnete Menge Phenobarbital-Natrium in der Mischung = 3,7 mg.

Durch Grenzreaktion gefunden = 3,9 mg, Fehler = ca. 5,4 %.

Reaktion 15: mit Denigès Reagens

a) Empfindlichkeit

Wie bei Millon's Reagens.

b) Genauigkeit

Nach dem Durchschütteln nimmt die Ausflockung noch etwas zu. Nach 2—3 Minuten bleiben die Werte der Ablesungen aber konstant.

Untersuchung einer Lösung von Barbitat-Natrium 1:10 000.

Zusatz: 2 Tr. Reagens 1+1 pro 2 cm³.

Ergebnisse der Interpolation an je 5 Versuchen:

1,4 cm³ : 5(xx), entsprechend 70γ

1,2 „ : 5(x), „ 60γ

1,1 „ : 5(o), „ 55γ

Grenzreaktion bei 60γ

Für Allylisopropylbarbitat:

Mit Vorteil wird 10 Sek. lang durchgeschüttelt und dann vor der Ablesung 10—15 Min. gewartet.

Für Allobarbitat:

Der flockige Niederschlag zeigt eine Grenze von 40γ , eine nachher sich bildende Trübung eine solche von 20γ

Wird 10 Min. nach Zugabe des Fällungsmittels 1 Tr. n-HCl beigelegt, so bildet sich nach vorübergehendem Schwächerwer-

den der Fällung ein feinkörniger Niederschlag bis zu 8 γ . (Achtung, alte Hg-Reagenslösungen weisen stets etwas Hg_2^{++} auf und geben mit HCl eine ähnlich aussehende Fällung von Hg_2Cl_2 !)

Praktische Anwendung

Ermittlung von Phenobarbital-Natrium in einer Mischung mit Coffein und Di-pyrim.

Berechnete Menge Phenobarbital-Natrium = 3,7 mg.

Gefundene Menge = 3,83 mg, Fehler = 3,5 %.

Reaktion 16: mit HgSO_4 „neutral“

Die Reagenslösung, die als „neutral“ bezeichnet wird, da sie gegenüber Denigès Reagens nur gerade soviel H_2SO_4 enthält, als zur Stabilisierung notwendig ist, gibt den gleichen Reaktionsverlauf wie Reaktion 15.

a) Empfindlichkeit

Da durch die Verdünnung der Fällungsmittel keine große Reaktionssteigerung erzielt werden konnte, anderseits die Empfindlichkeit des unverdünnten Reagens als optimal bezeichnet werden darf, sahen wir von einer Verdünnung ab.

b) Genauigkeit

Im Vergleich zu Denigès Reagens sind die Grenzen weniger scharf.

Für Allylisopropylbarbital: wie Denigès 1 + 1.

Für Allobarbital: die Reaktion zeigt keine klare Grenze, hingegen ergibt die Behandlung mit n-HCl die gleiche Grenzreaktion wie Denigès Reagens.

Praktische Anwendung

a) Einfluß von Beimischungen

Untersuchungen an einer Lösung von Allylisopropylbarbitursäure (gilt auch für die andern Barbitursäuren):

1. Zucker: 100-facher Ueberschuß, keine Verzögerung.
2. Antipyrin: 10-facher Ueberschuß hindert nicht. (Antipyrin wird durch die HgSO_4 -Reagenzien nicht gefällt.)
3. Di-pyrin: 10-facher Ueberschuß verursacht leichte Reaktionssteigerung.
4. Natriumazetat: erst bei 50-fachem Ueberschuß leichte Verzögerung.
5. Natriumsalicylat: wird selbst ausgefällt.

b) Ermittlung des Gehaltes an Allylisopropylbarbital
in Allonal-Tabletten zu 0,16 g

Herstellung der Lösung wie bei Reaktion 10.

Untersuchung einer Tablette zu 0,253 g (Durchschnittsgewicht = 0,25 g).

Theoretischer Gehalt = 60,7 mg pro Tablette.

Durch Grenzreaktion gefunden = 62,5, Fehler = ca. 3 %.

Reaktion 17: mit Quecksilberchlorid R.Ph.H.V

Reaktionen auf die Na- bzw. Ca-Salze.

a) Empfindlichkeit

Untersuchung wie bei Millon's Reagens.

b) Genauigkeit

Die Grenzen sind allgemein sehr scharf. Bei positiv ausfallender Reaktion bleibt der flockige Niederschlag mindestens 15 Minuten lang bestehen, bei negativem Befund nur 3—4 Minuten.

Für Allobarbital: nach 30 Minuten zeigt sich eine Trübung, bei der sich aber keine genaue Grenze feststellen läßt.

Reaktion 18: mit gesättigter HgCl_2 -Lösung und Erwärmen

Wir haben diese Reaktion für die Ermittlung von Allobarbital aufgenommen.

a) Empfindlichkeit

Die Reaktionsfähigkeit nimmt bei der Anwendung von 1 cm³ Reagens auf 1 cm³ Allobarbital-Lösung mit der Dauer des Erwärmens im kochenden Wasserbade zu und erreicht den Höchstwert bei 10 Minuten, den optimalen Grenzwert aber bei 3 Minuten. Die Ablesung muß sofort bei der Herausnahme aus dem Wasserbade erfolgen. Beim Abkühlen steigert sich die Reaktion bis zu 1 γ. Die Ca- oder Na-Salze der übrigen Barbitursäuren geben in kalter Lösung auch Fällungen, diese lösen sich aber beim Erwärmen und auch beim Ansäuern mit HCl. Im letzteren Falle bleibt die Allobarbital-Quecksilberchlorid-Fällung bestehen.

b) Genauigkeit

Untersuchung an einer Allobarbital-Lösung 1:20 000.

Zusatz: 1 cm³ HgCl₂ gesättigt zu 1 cm³ Lösung.

Beobachtung nach 3-minütigem Kochen. Ergebnisse der Interpolation an je 5 Versuchen:

0,7 cm³ : 5(x), entsprechend 35 γ

0,6 „ : 1(x)4(o), ,, 30 γ

Praktische Anwendung

a) Einfluß von Beimischungen

1. Antipyrin, mit gleichen Teilen: gute Reaktion,
4-facher Ueberschuß: Hemmung.
2. Phenobarbital-Natrium, 2-facher Ueberschuß: gute Reaktion,
8-facher Ueberschuß: Hemmung.
3. Zitronensäure: erst 100-facher Ueberschuß hemmt.
4. Stärke: 100-facher Ueberschuß hemmt nicht.
5. Zucker: 100-facher Ueberschuß hemmt nicht.

b) Ermittlung von Allobarbital neben Cyclobarbital, Antipyrin, Coffein, Phenazetin und Zucker

Berechneter Allobarbitalanteil = 6,7 mg.

Gefundener Wert: deutliche Reaktion = 6,15 mg,
ganz schwache Reaktion = 6,65 mg.

Reaktion 19: mit 0,1 n-AgNO₃

a) Empfindlichkeit

Die Empfindlichkeit nimmt mit der Erhöhung des Reagenszusatzes zu und erreicht die besten Werte mit 10 Tr. Reagens pro cm³.

In der Natur der Ausfällung zeigt sich ein starker Unterschied zwischen Barbitat-Natrium und Phenobarbitat-Natrium, die erstere ist feindispers kristallin, die letztere gelatinös und erst durch schütteln flockig. Die Reaktion tritt meist nach 2—3 Minuten ein. Cyclobarbitat-Kalzium verhält sich wie Phenobarbitat-Natrium. In salpetersaurer oder ammoniakalischer Lösung erfolgt keine Ausfällung.

b) Genauigkeit

Untersuchungen an einer Lösung von Barbitat-Natrium 1:10 000.

Zusatz: 20 Tr. (= 0,8 cm³) 0,1 n-AgNO₃ pro 2 cm³.

Ablesung nach 15 Minuten. Ergebnisse der Interpolation bei 5 Versuchen:

1,3 cm ³	: 2(xx) 3(x),	entsprechend	65γ
1,2 „	: 1(xx) 3(x) 1(o),	„	60γ
1,1 „	: 2(x)* 3(o),	„	55γ

* kaum merkliche Trübung.

Grenzreaktion bei 60γ

Praktische Anwendung

Ermittlung von Phenobarbital-Natrium neben Coffein und Di-pyridin. Di-pyridin, das in der Mischung in ca. 20-fachem Ueberschuß vorhanden war, gab mit AgNO₃ die bekannte, starke Violettfärbung und nach ca. 10 Minuten Ausfällung von reduziertem Silber. Die Ablesung der Phenobarbital-Silber-Ausfällung mußte deshalb vorher vorgenommen werden. Dabei fielen die Werte etwas zu hoch aus.

Theoretischer Wert = 3,7 mg.

Durch Grenzreaktion gefundener Wert = 4,1 mg, Fehler = 10,8 %.

Uebersicht

Die arabischen Zahlen geben die Nummern der Reaktionen an, mit denen ein Stoff neben einem entsprechenden andern erfaßt werden kann.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
I. Allobarbitol	/	15,16 18	15,16 18	15,16 18	14-16 18	14-16 18	14-16 18	14-16 18	14-16 18
II. Antipyrin	6	/	6,9	6	6-9	6-9	6 8,9	6-9	6-9
III. Barb.säuren frei, ohne Allobarbitol	/	15 16	/	/	14-16	14-16	14-16	14-16	14-16
IV. Ca- und Na- Salze der Barb.säuren	19	15-17 19	17 19	/	14-17 19	14-17 19	14-17 19	14-17 19	14-17 19
V. Coffein	1-3	2	1-3	1-3	/	1 2	/	/	/
VI. Laktophenin Phenazetin	11 12	11 12	11 12	11 12	11 12	/	11 12	11 12	11 12
VII. Di-pyrin	10	10	10	10	10	10	/	10	10
VIII. Theobromin	1-4	4	1-4	1-4	4	1,2 4	4	/	/
IX. Theophyllin	1-5	4,5	1-4a	1-4a	4a 5	1,2 4,5	4,5	5	/

Tabelle 9

Reagenzien-Verzeichnis

Denigès Reagens: 4 cm³ H₂SO₄ konz. werden mit 20 cm³ Wasser gemischt. In der noch heißen Mischung wird 1,0 g rotes Quecksilberoxyd gelöst.

Kaliumantimonjodid: 5,0 g Antimontrioxyd werden in 20 cm³ HCl 25 % durch leichtes Erwärmen gelöst und in einem Meßkolben mit einer wäßrigen Lösung von 40 g Kaliumjodid auf 100 cm³ ergänzt und filtriert. Aufbewahrung in dunkler Flasche.

Kaliumferrocyanid: Kalt gesättigte Lösung.

Natriumwismutjodid: In einem geschlossenen Kolben werden 2,08 g fein gepulvertes Wismutmetall unter leichtem Erwärmen zusammen mit 3,81 g Jod und 20 g Natriumjodid in 60 cm³ Wasser gelöst, wobei mindestens während 30 Min. kräftig geschüttelt werden muß. Nach erfolgter Lösung und Abkühlung wird auf 100 cm³ ergänzt und filtriert. Aufbewahrung in hellem Glase.

Neßler's Reagens: 2,5 g Kaliumjodid und 3,5 g rotes Quecksilberjodid werden in 3 cm³ Wasser gelöst. Der Lösung werden 50 cm³ konz. KOH und 50 cm³ Wasser zugesetzt. Die Mischung läßt man einige Tage stehen und gießt dann die Lösung vom Bodensatz klar ab.

Quecksilberchlorid: 6,8 g HgCl₂ und 5,8 g NaCl werden in Wasser zu 100 cm³ gelöst.

Quecksilbernitrat: 2,5 g Quecksilber werden in 25 g Salpetersäure 65 % gelöst.

Quecksilbernitrat nach Millon: 10 g rotes Quecksilberoxyd werden in einer Mischung von 10 cm³ Salpetersäure 65 % und 15 cm³ Wasser gelöst.

Quecksilbersulfat „neutral“: 7,0 g Quecksilbersulfat werden in einer Mischung von 80 cm³ Wasser und 4,5 cm³ H₂SO₄ konz. gelöst und auf 100 cm³ ergänzt.

Schlussbetrachtung

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Grenzreaktionsmethode bei der Anwendung entsprechender Reagenzien eine rasche Ermittlung von Werten erlaubt, die eine durchschnittliche Streuung von $\pm 5\text{--}10\%$ aufweisen. Es ist dabei auf die Einhaltung konstanter Bedingungen zu achten, von denen die Genauigkeit der Resultate zum Teil sehr stark abhängt. In der pharmazeutischen quantitativen Analyse eignet sich diese Methode nicht nur für die Erfassung von isolierten Stoffen, sondern auch für die Ermittlung bestimmter Stoffe aus der Lösung eines Gemisches oder aus der Auflösung eines galenischen Präparates.

Die Beispiele der Coffeinbestimmungen aus Purindrogen zeigen hingegen, daß nur in beschränktem Maße eine direkte Ausfällung des Alkaloids im wäßrigen Auszuge möglich ist. Es muß daher der Bestimmung eine Isolierung des Wirkstoffes vorausgehen, sei es durch einen Chloroformauszug, sei es durch Sublimation.

Curriculum vitae

Ich, Friedrich Arnold Lehner, Sohn des Arnold Gustav Lehner, Kaufmann (gest. 1939) und der Alice Hedwig, geb. Oegger, wurde am 9. Nov. 1921 in Goenoeng-Malajoe auf Sumatra geboren. 1923 siedelten meine Eltern in die Schweiz zurück. Am Realgymnasium in Basel bestand ich 1940 die Maturität und immatrikulierte mich darauf an hiesiger Universität, um mich dem Studium der Pharmazie zu widmen.

Nach Absolvierung der Fachprüfung als Apotheker im Herbst 1946 begann ich die vorliegende Arbeit unter der Leitung von Herrn Prof. K. Leupin.

Während meiner Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen und Praktika folgender Professoren und Dozenten: E. Bernoulli, H. Erlenmeyer, J. A. Häfliger, A. Hagenbach, K. Leupin, T. Reichstein, E. Rothlin, P. Ruggli, H. Rupe, O. Schüepp, G. Senn, J. Tomcsik, R. Viollier und W. Vischer.

Allen diesen Herren sei bestens gedankt.

Es möge mir insbesondere gestattet sein, an dieser Stelle meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. K. Leupin, für die Ratschläge, die er mir während meiner Arbeit gab, meinen wärmsten Dank auszusprechen.

